ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris et J.-F. HEYMANS, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

VOLUME XXXI

BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR,
58, RUE COUDENBERG

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON.

1926

Les Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie

paraissent par fascicules, avec planches et figures intercalées dans le texte au fur et à mesure que les travaux parvenus à la rédaction le permettent.

Les auteurs reçoivent 50 tirés à part.

Six fascicules forment un volume d'environ 500 pages.

Prix du volume XXXI : **100** francs.

On s'abonne chez les éditeurs ou à la rédaction.

Secrétariat de la rédaction :
Institut de Pharmacodynamie, 3, Quai Baertsoen,
Gand (Belgique)

MAISON D'ÉDITION VANDERPOORTEN & Cie RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.

Table des matières du vol. XXXI.

ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris et J.-F. HEYMANS, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

J.-J. Abel, Baltimore ; **M. Arthus**, Lausanne ; **A. Benedicenti**, Gênes ; **J.-C. Bock**, Copenhague ; **A. Bonanni**, Pavie ; **J. Bordet**, Bruxelles ; **R. Bruynoghe**, Louvain ; **A.-J. Clark**, Londres ; **M. Cloetta**, Zurich ; **G. Coronedi**, Florence ; **P. Courmont**, Lyon ; **A.-R. Cushny**, Edimbourg ; **H.-H. Dale**, Londres ; **W.-E. Dixon**, Cambridge ; **P. Giacoso**, Turin ; **J.-A. Gunn**, Oxford ; **V. E. Henderson**, Toronto ; **F. Henrijean**, Liége ; **M. Henseval**, Gand ; **C. Heymans**, Gand ; **M. Ide**, Louvain ; **A. Lumière**, Lyon ; **E. Malvoz**, Liége ; **P. Marfori**, Naples ; **A. Mayor**, Genève ; **M. Miculicich**, Zagreb ; **K. Morishima**, Kyoto ; **P. Nolf**, Liége ; **J. Novi**, Bologne ; **C. E. Overton**, Lund ; **G. Pouchet**, Paris ; **E. Poulsson**, Christiania ; **Reid Hunt**, Boston ; **A. Richaud**, Paris ; **Ch. Richet**, Paris ; **G. Roux**, Paris ; **L. Sabbatani**, Padoue ; **T. Sollmann**, Cleveland ; **A. Valenti**, Parme ; **G. Vinci**, Messine, **E. Zunz**, Bruxelles.

VOLUME XXXI, FASCICULE I-II.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR,
58, RUE COUDENBERG

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON.

1925

Table des matières des volumes antérieurs.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI TORINO.
DIRETTO DAL PROF. P. GIACOSA.

SULLA FUNZIONE DEL CUORE ISOLATO DI RANA

DEL

DOTT. MARIO CHIÒ,
Assistente e Lib. Docente.

Gli esperimenti che consegno nella presente Memoria furono eseguiti nell'intento di studiare la funzione del cuore isolato precipuamente in quanto riguarda il suo lavoro; essi sono la base per ricerche sul comportamento del cuore sotto l'influenza dei farmaci.

Tutti questi esperimenti vennero eseguiti con l'apparecchio (fig. 2) da me costruito e già descritto (1).

Riporto tuttavia l'incisione dell'apparecchio e credo utile di dare una breve spiegazione dei principii sui quali fu da me costruito; affinchè questi appaiano chiari unisco uno schema dimostrativo (fig. 1).

Il liquido di perfusione è contenuto nella boccia di MARIOTTE X, scende da questa al cuore e poi è dal cuore gettato in direzione di T. Il movimento del liquido è mantenuto sempre nella stessa direzione dalle due valvole t e t_1.

Le due sezioni A e B sono indipendenti l'una dall'altra fin che il cuore non sia innestato. Nella sezione B la pressione positiva del mercurio nella valvola H è esattamente compensata dalla pressione negativa N della colonna di acqua che sta nei tubi fra R ed Y.

I. — Cuore non innestato, aperture beanti, tutto aperto.

Il liquido fluisce liberamente da X verso Z; *Non fluisce liquido* da Y, perchè il peso della colonna di acqua fra R ad Y è esattamente compensata dalla colonna di mercurio della valvola H.

II. — Cuore innestato, *ma fermo* (si può sostituire con un tubetto di gomma chiuso ad una estremità).

Il cuore è sottoposto ad una pressione M, *ma non esce liquido da Y*, perchè il livello S nella boccia di MARIOTTE è alla stessa altezza del

livello del liquido contenuto nella cameretta del tamburino R, e quindi la pressione negativa fra S ed Y è sempre compensata dalla pressione positiva del mercurio in H.

III. — Cuore innestato e pulsante.

Il cuore riceve liquido da X, sotto pressione M, e lo getta in direzione di T: qui una parte prosegue verso la valvola H e passa attraverso a questa superando la resistenza che la valvola offre al deflusso; un'altra parte, cioè quella che non può passare attraverso alla valvola, prende facilmente la via del tamburino, che offre *pochissima inerzia*, e si raccoglie in questo.

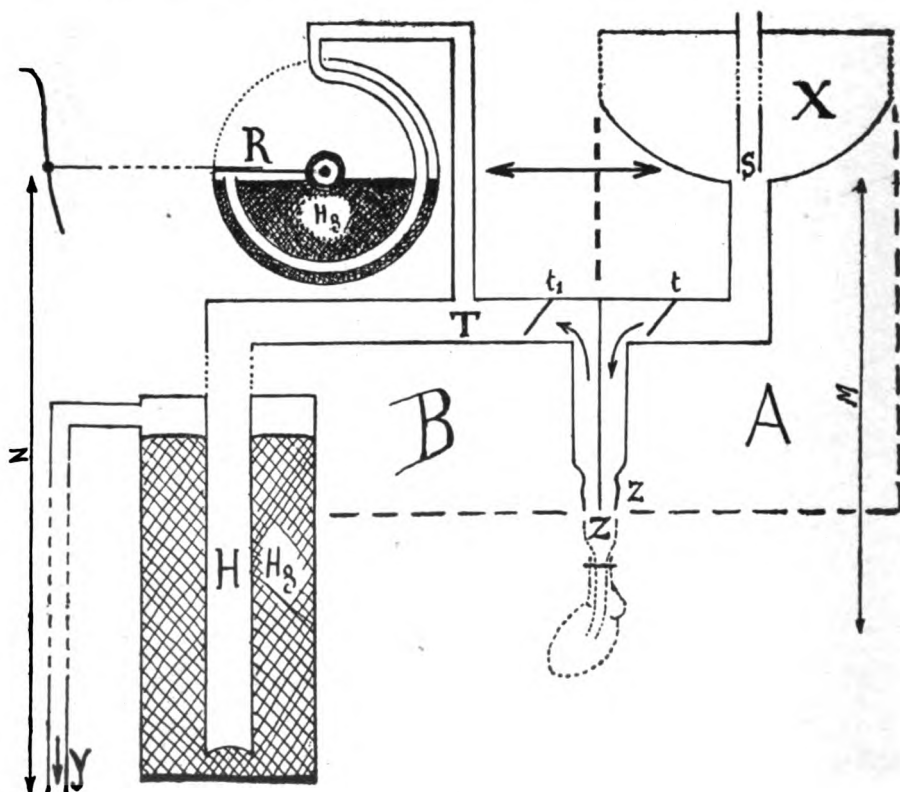



FIG. 1.

All'inizio della diastole la valvola t_1 si chiude (mentre si apre t), ed allora il liquido che si era raccolto nel tamburino defluisce a sua volta, durante tutto il riposo del ventricolo, attraverso H verso l'apertura Y, perchè l'equilibrio idraulico fra acqua e mercurio è rotto e tende a ristabilirsi.

Il tamburino rappresenta le grosse arterie dell'organismo animale,

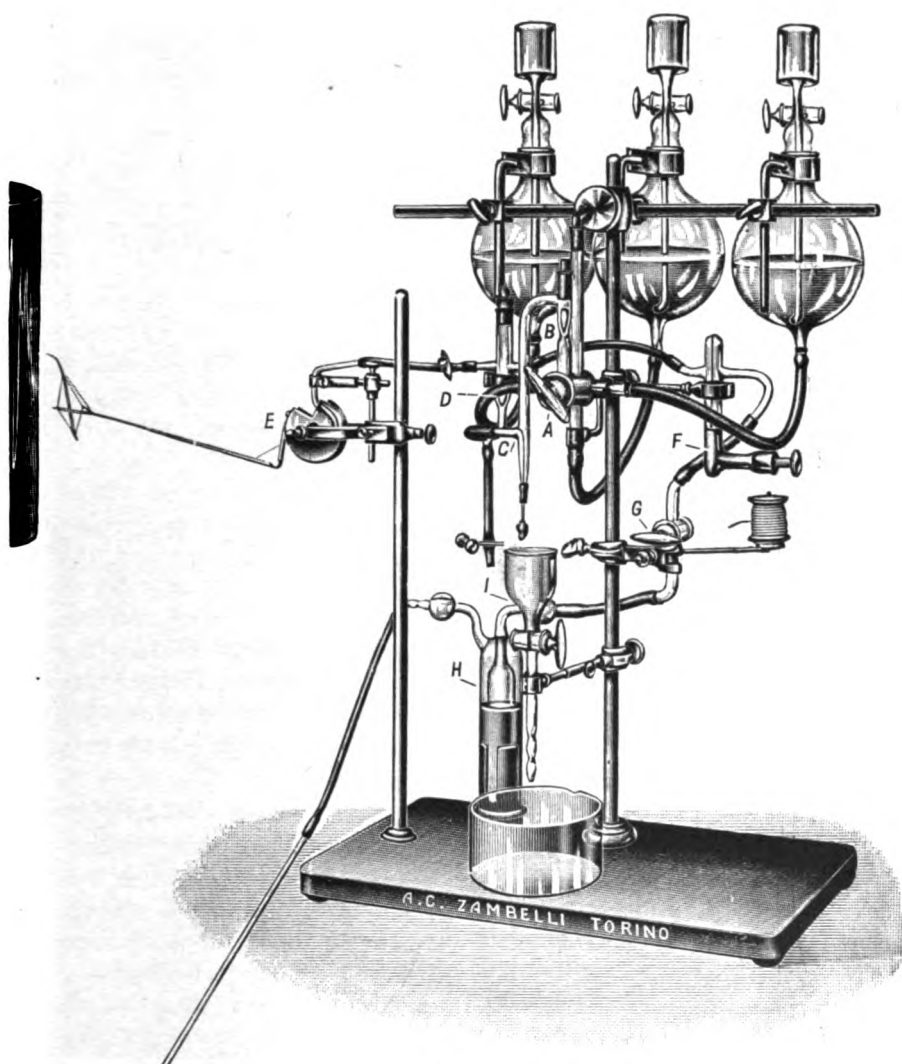



FIG. 2.

la valvola a mercurio il sistema capillare. Le grosse arterie assorbono per la loro elasticità l'eccesso di sangue che non può passare attraverso ai capillari, e poi gradualmente lo restituiscono, così che la velocità del sangue che fluisce dai capillari si mantiene approssimativamente costante. Il tamburino, rotando, assorbe l'eccesso di liquido, espulso dal cuore, che non può passare attraverso la valvola a mercurio e poi gradualmente lo restituisce ed anche in questo caso la velocità del deflusso attraverso la valvola è mantenuta approssimativamente costante.

Il liquido dunque entra nel tamburo con velocità variabile e ne esce con velocità praticamente costante : se la quantità di liquido che entra è maggiore della quantità di liquido che esce, la penna che scrive la rotazione del tamburo si eleva ; se la quantità di liquido ch eesce è maggiore della qanntità che entra, la penna si abbassa.

Data l'opposizione di due forze, l'una costante, — la forza di gravità —, e l'altra variabile, — la forza del cuore —, che agiscono sul tamburino, questo avrà in ogni momento la posizione che sarà determinata dalla risultante : ma poichè una di esse è costante, la grafica non potrà essere che la rappresentazione delle variazioni dell'altra in funzione del tempo.

I tracciati debbono essere simili a quelli della pressione arteriosa perchè il tamburino corrisponde al manometro a mercurio del chimografo di LUDWIG e scrive la pressione laterale del sistema di tubi del deflusso di liquido dal cuore ; ma data la lievissima inerzia del tamburo, e le piccole variazioni di livello che in esso si determinano durante la sistole cardiaca (non più di cm. I), effettivamente il tamburo segna non solo le variazioni di pressione, ma le variazioni dei volumi di liquido che il cuore emette, e per questo fatto appunto si ottiene la più approssimata rappresentazione grafica delle variazioni del lavoro del cuore compiuto in funzione del tempo.

L'ampiezza delle grafiche è dovuta alla estrema sensibilità del tamburino ad alla esatta disposizione degli equilibrii idraulici che ne reggono il funzionamento.

Il tamburino è una piccola scatola tonda di celluloide sospesa e rotante sul suo asse. Il maggior diametro è di cm. 5, il minore di cm. 1,2. Manca un quarto della sua parete circolare periferica. Un diaframma di celluloide è teso fra l'asse e la periferia e ben saldato ai margini ; su esso è fissata la penna scrivente. Il tamburo contiene mercurio fin quasi a metà del suo volume. Fra la superficie del mercurio ed il diaframma è delimitata una cameretta (sotto alla lettera R), nella quale sbocca un tubo di vetro che attraversa il mercurio e che porta nella cameretta il liquido di perfusione emesso dal cuore. Ad ogni apporto di liquido nella cameretta del tamburo la parete costituita dalla superficie del mercurio oppone resistenza per l'inerzia del mercurio a muoversi e ruota invece il tamburino, sollevando la penna

scrivente. E' ovvio rilevare che ogni sollevamento della penna è rigorosamente proporzionale alla quantità di liquido che entra nella cameretta. Appena cessa l'apporto di liquido il tamburo inizia la rotazione in senso opposto, per le ragioni sopra enunciate.

Il metodo col quale isolo il cuore e lo appendo alla cannula fu da me descritto precedentemente (2). Qui ricordo soltanto che con questo metodo, a differenza che con quello prima comunemente seguìto, è rispettato completamente il seno ed il cuore è legato alla cannula esclusivamente per mezzo della cava addominale.

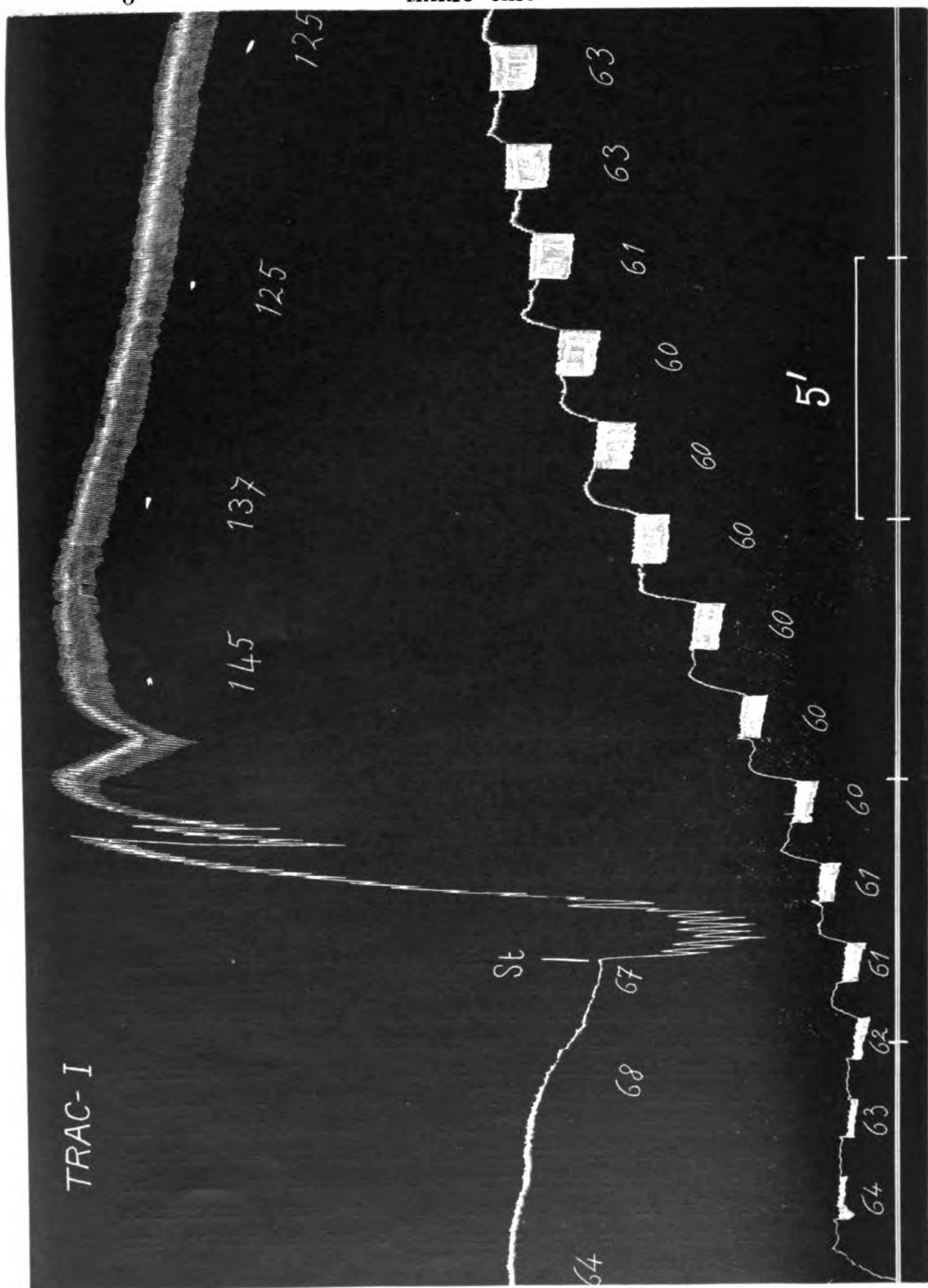
Il cuore così appeso funziona con ritmo molto frequente e con produzione di lavoro scarsa e pressochè invariata fino all'esaurimento, se non è sottoposto ad azioni che modifichino l'andamento della sua funzione.

Il cuore fu perfuso con RINGER. Per mantenere sempre umide le sue pareti non lo tenni immerso in liquido, ma molto più convenientemente disposi perchè una corrente di RINGER scorresse continuamente sulle sue pareti esterne.

ESPERIMENTI.

§ I. — Rapporti fra lavoro e ritmo cardiaco.

Il cuore appeso col mio metodo mantiene, come ho detto, un ritmo molto frequente, e la grafica che descrive il suo lavoro presenta oscillazioni insignificanti. Si può elevare la produzione di lavoro del cuore senza variarne il ritmo comprimendo molto leggermente il seno con un'ansa di filo di seta o tirando leggermente il nodo che chiude le due cave laterali. Ma non è possibile ottenere che questi stimoli siano ben determinati come intensità ed uniformità ed ho quindi cercato un metodo che rispondesse bene a queste due condizioni.

Ho disposto nel mio apparecchio una comunicazione diretta, munita di rubinetto, fra cuore e tamburino scrivente, tale che aprendo il rubinetto di questa comunicazione e chiudendo contemporaneamente la via di scarico (rubinetto G), il liquido emesso dal cuore non possa più circolare e ritorni direttamente al cuore ad ogni pausa diastolica, restando così esclusa la valvola D. D'altra parte è pure automaticamente immobilizzata la valvola B, cioè non entra nuovo liquido nel cuore, perchè il livello del mercurio nel tamburino scrivente e l'apertura del tubo delle boccie di MARIOTTE sono alla stessa altezza. Così la pressione della colonna liquida sotto la quale lavora il cuore resta immodificata, ma il cuore riceve come un colpo d'ariete al ritorno verso di esso della colonna.

Tracciato I.

TRACCIATO I°. — La grafica inferiore del 1° tracciato dimostra i risultati che si ottengono con questa disposizione tecnica. I parallelopipedi bianchi corrispondono ai periodi nei quali il circolo è arrestato, i tratti intermedi sono la grafica regolare del cuore nelle normali condizioni dell'apparecchio. Ogni parallelopipedo si compone di una cinquantina di escursioni della penna scrivente.

La frequenza del ritmo è seguìta con un cronometro a mano e le cifre scritte sul tracciato significano IN QUANTI QUINTI DI SECONDO SI COMPIANO 10 CONTRAZIONI DEL CUORE. L'errore è inferiore al quinto di secondo.

Questa grafica mostra con chiarezza che il lavoro del cuore può aumentare anche se resta invariato il ritmo. Il progressivo aumento di ampiezza dei singoli gruppi è dovuto ad un aumento della distendibilità delle pareti cardiache, cioè ad una diminuzione del tono. E se la produzione di lavoro si eleva mantenendosi invariato il ritmo, ciò dipenderà soltanto dall'aumento di energia delle contrazioni isolate, quindi *in questo caso l'aumento di energia delle contrazioni isolate non è inversamente proporzionale alla frequenza del ritmo.*

La grafica superiore è ottenuta in seguito ad una forte compressione degli atrii, quasi al limite di questi col seno: ho avvolto un robusto filo di seta ad ansa attorno al punto stabilito ed ho eseguito una breve e forte trazione sui capi. Aumenta l'energia delle contrazioni cardiache, diminuisce la frequenza, ed il lavoro è molto elevato. Vale per questo periodo la legge generale.

§ II. — Influenza delle compressioni del seno e degli atrii sul ritmo e sul lavoro.

TRACCIATO II°. — Il tracciato 2° è scritto da un cuore sul quale sono portate successive fortissime legature: la prima sulle pareti della vena cava addominale, sotto al tratto in cui è legata sulla cannula; la seconda immediatamente sopra l'imbocco delle cave laterali; la terza copre il nodo che chiude le cave laterali; la quarta è posta poco sotto, la quinta poco sopra la metà degli atrii; la sesta poco sotto, la settima subito sopra il bulbo aortico; l'ottava sul solco atrio-ventricolare.

Ritengo utile, per quanto riguarda il mio studio, di fare i seguenti rilievi:

1° La prima legatura non dà effetti apparenti.

2° La seconda e la terza legatura provocano reazione: la terza più che la seconda. Se le legature costituiscono uno stimolo, questo si può considerare sempre equivalente, perchè è massimo come stimolo meccanico. La sede è in entrambi i casi il segmento dal quale partono le

onde di eccitazione delle contrazioni cardiache, il cuore è in entrambi i casi inizialmente nelle stesse condizioni apparenti (frequenza, lavoro): dunque nella zona generatrice debbono elaborarsi onde di eccitamento di diversa intensità.

Io ritengo che la causa della differenza nell'ampiezza delle singole contrazioni e nel rendimento del cuore stia nel fatto che fu esclusa una parte della zona di generazione.

E' la spiegazione che diede BOTTAZZI del fenomeno del ritmo periodico descritto da LUCIANI sul cuore di rana e da BOTTAZZI sul cuore embrionale di pollo; non posso trovare altra spiegazione benchè in questo caso si abbia aumento invece di diminuzione della capacità funzionale. Vedremo più avanti come si debba giustamente intendere il fenomeno.

3° In seguito alle legature 2 e 3 il ritmo del cuore prima rallenta, e poi riprende la frequenza che aveva prima che si facessero le legature. L'uniformità del comportamento susseguente alla forte compressione eseguita su due tratti diversi indica che le zone inferiori alla linea di compressione hanno fondamentalmente le stesse proprietà funzionali, ma la differenza nella produzione di lavoro indica che generano onde di eccitamento quantitativamente differenti.

4° Nel corso della seconda caduta della curva questa non raggiunge più l'ascissa, ma ne resta un poco lontana. Ciò vuol dire che dopo la 3*a* legatura permane nel segmento non escluso la capacità di provocare maggior produzione di lavoro.

5° Immediatamente dopo l'esecuzione della 4*a* legatura la curva si abbassa: la caduta però non è dovuta ad arresto del cuore, perchè il ritmo si mantiene sempre frequente. Sopravviene in seguito l'elevazione. Abbiamo dunque, in quanto concerne il lavoro, prima una fase negativa e poi una fase positiva.

6° Il cuore, in seguito alla quarta legatura, raggiunge il massimo della sua efficienza *e la mantiene*. Dunque, in seguito alla esclusione del segmento comprendente gli ostii venosi, il cuore svolge la sua massima attività funzionale.

Ora, come BOTTAZZI ritiene che il ritmo periodico osservato nelle sue esperienze sia determinato dal fatto che il segmento automatico che non è messo fuori questione non possiede un grado di automatismo capace di determinare un ritmo pulsatile regolare, così io ritengo che l'aumento della capacità di lavoro del cuore dipenda da una differenza nell'attitudine a formare onde di contrazione. L'automaticità, come attitudine a formare onde, va diminuendo perchè il ritmo rallenta, ma la intensità con la quale le onde si generano va indubbiamente aumentando dall'imbocco delle cave fino al tratto consecutivo alla legatura 4.

Questa asserzione è, secondo me, sufficientemente provata dal fatto che nel periodo che corre fra le legature 4 e 5, in confronto del

periodo che corre fra le legature 2 e 3, la maggiore produzione di lavoro si accompagna con una maggiore frequenza ; ed è fondata sulle seguenti considerazioni :

1° Nulla è mutato nelle condizioni di perfusione del cuore, che possano aumentarne la forza di contrazione.

2° Non è diminuita la tonicità muscolare, per modo che possa essere aumentata l'espansibilità del cuore e quindi la portata e la gettata, perchè la frequenza delle contrazioni è maggiore e l'aumento della frequenza coincide sempre con un aumento del tono.

3° Di regola l'aumento della frequenza, quando oltrepassa un certo valore, *coincide con la diminuzione del lavoro*, e poichè nel tratto fra 4 e 5 lo oltrepassa, la curva dovrebbe essere qui meno elevata che fra 2 e 3. (Cfr. altri tracciati).

Se tuttavia l'elevazione è maggiore vuol dire che la migliore utilizzazione della forza cardiaca non può essere dovuta che ad un aumento dell'intensità delle onde di contrazione.

Una spiegazione semplice starebbe nel pensare che nonostante l'aumento della frequenza si abbia altresì un aumento della portata del cuore, ma anche questa spiegazione includerebbe in ogni modo la constatazione che deve essere aumentata l'attività della zona generatrice delle onde di contrazione nel periodo fra 4 e 5 in confronto del periodo fra 2 e 3.

7° In seguito alla legatura 5 si ha un breve netto arresto diastolico, al quale segue un tratto di ritmo periodico, poi la curva presenta un ritmo costante.

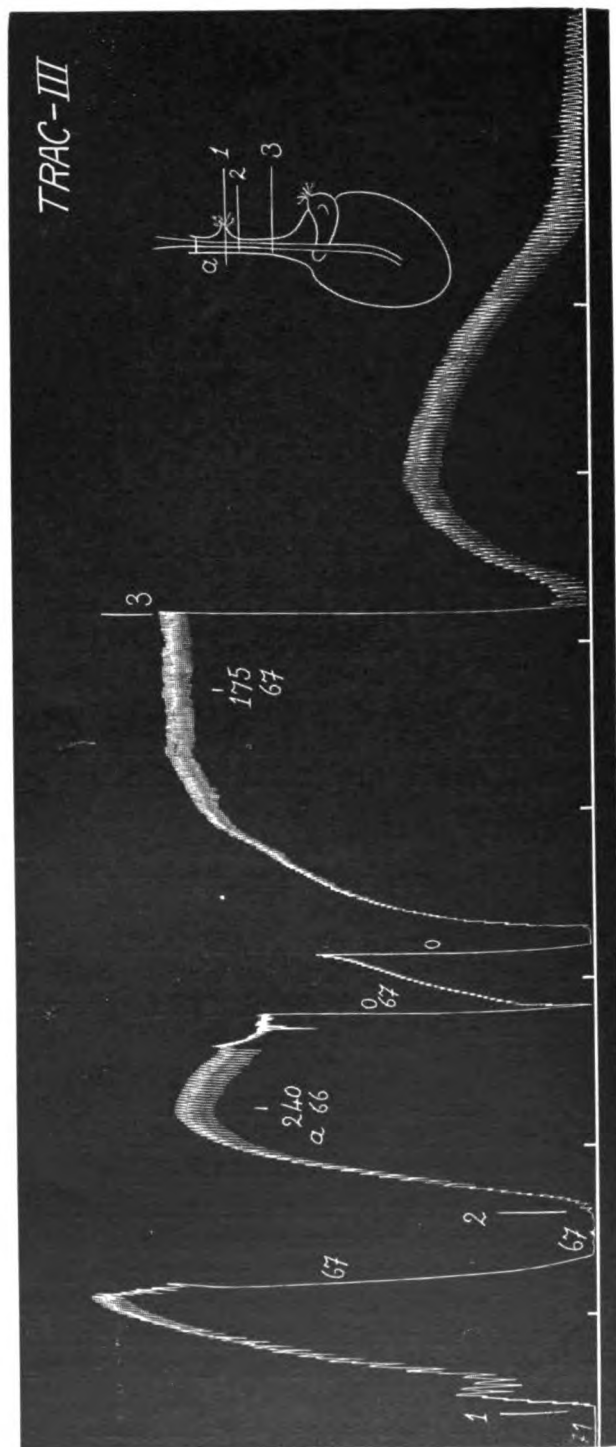
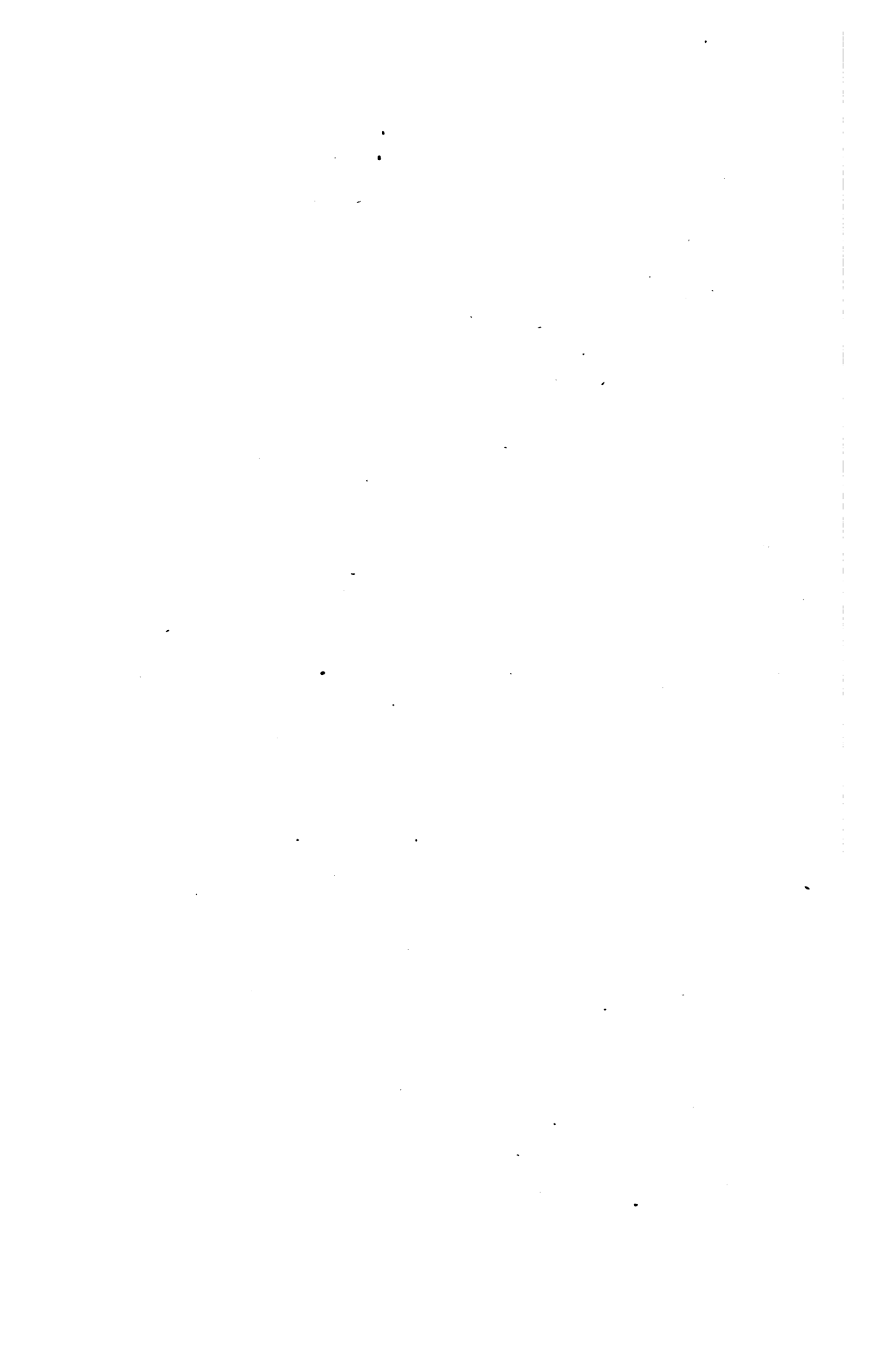
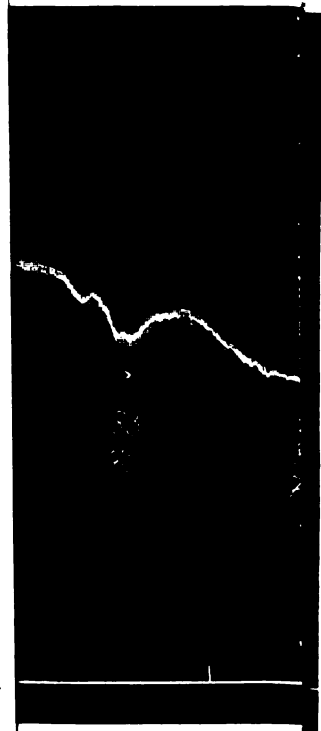
8° Le legature 6 e 7 non provocano arresto diastolico, mentre ciò avverrebbe se non avessi fatto le legature precedenti.

TRACCIATO III. – La grafica è scritta da un cuore sul quale furono portate successivamente tre legature : la prima sopra gli ostii venosi; la seconda sulla parte superiore degli atrii, al limite del seno ; la terza poco sotto la linea mediana degli atrii.

Si osserva :

1° che dopo la prima legatura il ritmo rallenta ed il lavoro aumenta ; poi il ritmo riaccelera ed il lavoro diminuisce.

2° che dopo la seconda legatura si ripetono fino ad un certo punto i fenomeni osservati nel periodo precedente ; poi il cuore riprende una certa frequenza, ma non la può mantenere e si ha una caduta diastolica ; segue una ripresa che però dura poco, perchè il cuore, come esaurito, ricade in diastole ; infine, dopo un periodo di riposo, l'attività cardiaca riprende e si mantiene con ritmo ventricolare rallentato e notevole produzione di lavoro. Il ritmo del primo segmento escluso resta invariato.

3° che dopo la terza legatura si ha un breve arresto diastolico, al

TRACCIATO III.

quale segue un periodo nel quale dapprima aumentano frequenza e lavoro e poi cedono entrambi ed il cuore progressivamente si avvia verso l'arresto finale diastolico.

Interessante in questo tracciato è il tentativo del ritorno alla tachicardia, nel periodo che segue alla seconda legatura, tentativo che è però presto troncato in causa dell'insufficiente automatismo del tessuto posto inferiormente alla legatura.

Ritengo che sia sufficientemente dimostrata la progressiva diminuzione della capacità automatica degli atrii procedendo dal seno verso il ventricolo, intendendo però che non si deve confondere la proprietà di generare stimoli frequenti con la proprietà di generare stimoli forti.

TRACCIATO IV. — Questo tracciato, a differenza dei due precedenti, è ottenuto portando successivamente sul cuore non legature, ma compressioni lineari transitorie. Esse sono eseguite avvolgendo il seno o gli atrii con un'ansa di forte filo di seta, il quale è per un tratto mantenuto orizzontale all'altezza del cuore e poi piega in basso e porta alle estremità dei pesi.

In *1* l'ansa passa sul nodo che chiude le due cave laterali ed è tesa dal peso di gr. 10, cioè di gr. 5 per ogni estremità del filo. In *1a* l'ansa *è* tolta. In *2* l'ansa è posta sotto alla legatura delle cave laterali ed è tesa dal peso di gr. 10, come sopra. In *2a* il laccio è tolto. In *2b* pongo un'ansa ancora in *2*, tesa da gr. 20 e la tolgo subito. In *2c* ripeto l'operazione nello stesso posto, ma tiro fortemente i fili. In *3* pongo un'ansa circa *1* mm. più basso ed esercito una breve, energica compressione. In *4* l'ansa è posta subito sopra al bulbo aortico e la trazione è anche forte e di breve durata. In *5* la stessa operazione è eseguita sul solco atrioventricolare. I numeri scritti sul tracciato rappresentano, in quinti di secondo, il tempo nel quale si compiono 10 contrazioni risp. del segmento segnato con lettera di fianco al numero.

Da questo tracciato si rileva :

1° Un laccio di gr. 10 posto sul punto ov'è lo sbocco delle cave laterali non dà elevazione della curva, ma dà invece un abbassamento. La regola però è l'elevazione della curva dopo una breve caduta.

2° Un laccio teso dallo stesso peso, posto sotto allo sbocco delle cave laterali provoca elevazione violenta della curva. Con un apparato di ingrandimento, opportunatamente disposto sull'apparecchio, si può vedere benissimo la dissociazione dei movimenti dei due segmenti del cuore. Il segmento superiore al laccio mantiene all'incirca il suo ritmo, mentre il ventricolo compie un numero di contrazioni molto minore. Togliendo l'ansa i due segmenti riprendono a pulsare all'unissono, ma lo stato tachicardico è esagerato e la curva cade fino all'ascissa. Vedremo più avanti come si debbano interpretare questi due fenomeni.

3° Dopo l'apposizione dell'ansa in *2b* (allo stesso posto di prima) la curva si eleva nuovamente e permane elevata. La forte trazione sui fili ha determinato un effetto irreversibile. Si vede anche qui la dissociazione dei moti dei due segmenti. Si osservi pure che la frequenza delle contrazioni ventricolari va aumentando da *2b* verso *2c*.

4° Dopo l'apposizione dell'ansa in *2c* si osserva l'oscillazione in basso e poi la ripresa verso l'alto, e la dissociazione del ritmo. Non ho la sicurezza assoluta di aver apposto il laccio nel punto preciso in cui apposi il precedente, ma è certo che la trazione fu così forte che la connessione fra i due segmenti fu sicuramente abolita.

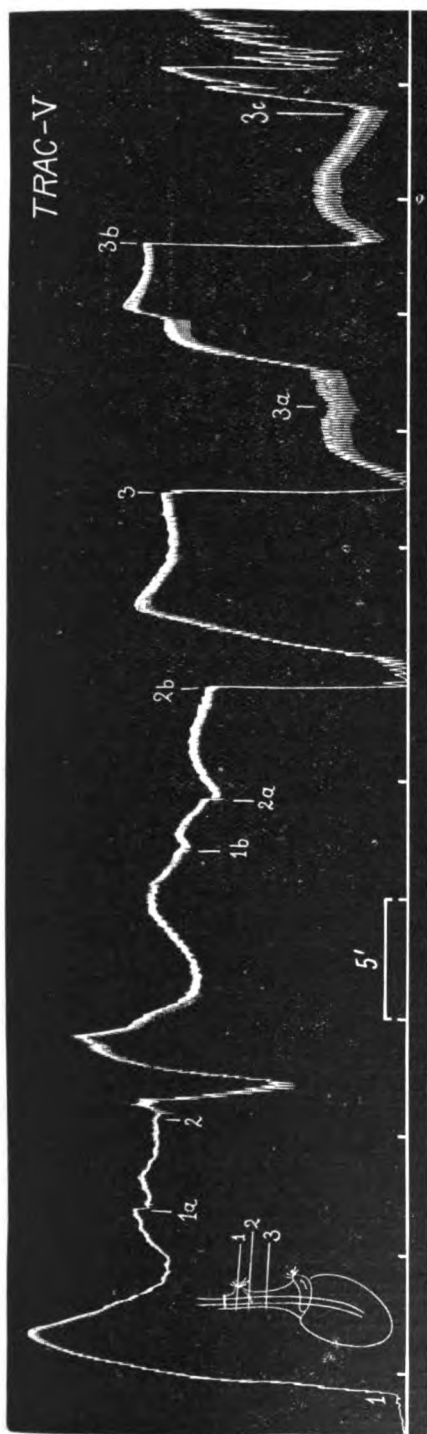
(A dimostrare che una forte compressione lineare circolare degli atrii abolisce la trasmissione può valere l'esperimento seguente : su un cuore esercito una prima compressione sulla metà inferiore degli atrii ed ho un prolungato arresto diastolico, poi durante la pausa esercito una seconda compressione sul seno e non ho traccia di ripresa).

5° Dopo la breve energica compressione in *3* s'osserva abbassamento della curva senza modificazione apprezzabile del ritmo ; poi si ha una ripresa e dopo qualche tempo una ricaduta con ampi arresti diastolici e forte diminuzione della frequenza. I tre segmenti hanno ciascuno un ritmo proprio. La ripresa sarebbe continuata fino ad un massimo, nel quale le contrazioni avrebbero assunto ritmo costante : così ho sempre osservato in prove eseguite espressamente.

6° Dopo la breve energica compressione in *4* si ha pure inizialmente un leggero abbassamento della curva ed una ben evidente diminuzione di ampiezza delle singole contrazioni, cioè una minore gettata. Poi la curva si eleva fino ad un punto in cui rimane orizzontale. *Avviene proprio l'opposto di quanto avverrebbe se avessi esercitato in questo tratto una compressione primitiva, cioè non preceduta da altre : avrei avuto immediatamente un lungo arresto diastolico, seguìto da ritmo periodico fino all'arresto finale.*

7° In seguito alla forte compressione sul solco atrio-ventricolare (*5*) le contrazioni ventricolari sono molto piccole nel tratto in cui la curva si abbassa, poi si fanno progressivamente più ampie. Ad un certo punto arresto la circolazione del liquido nel cuore per poter contar bene le pulsazioni dei singoli segmenti cardiaci. Il numero delle pulsazioni è scritto sul tracciato. Manca l'osservazione del segmento *e*, perchè non è visibile alcun ritmo proprio.

8° Come nel tracciato II, anche nel IV non si osserva arresto diastolico prolungato subito dopo le compressioni sugli atrii.

Si rilevi infine la differenza che corre fra i tracciati II, III, e IV. Le *legature* degli atrii (II e III) provocano forte bradicardia, mentre le *allacciature transitorie* (IV) provocano bradicardia solo transitoriamente o non la provocano affatto. Senza alcun dubbio ciò dipende dal fatto che nel primo caso gli atrii non possono distendersi come nel secondo caso, e la distensione deve essere condizione importantissima

TRACCIATO V.

per la generazione delle onde. Debbo però dire che la regola presenta eccezioni, che per ora non spiego : talvolta ho osservato che giungendo progressivamente con successive legature alla metà inferiore degli atrii non avveniva il rallentamento che si osserva nei tracciati II e III.

Ho però sempre visto, nei casi che sono la regola, che la bradicardia provocata da una compressione lineare prolungata della metà inferiore degli atrii è arrestata dalla interruzione della compressione.

TRACCIATO V. — Il tracciato V dimostra chiaramente questo fatto. In *1* dispongo un'ansa tesa da gr. 10 sull'imbocco delle cave laterali e la tolgo in *1a* ; in *2* applico un'ansa tesa da gr. 10 sotto alla precedente e la tolgo in *2a* ; però poco prima *(1b)* ho fatto una legatura sulla linea sulla quale avevo prima teso l'ansa *1* ; in *2b* faccio la legatura sul tratto in cui avevo tesa l'ansa *2* ; in *3* applico il laccio, teso da gr. 10, a metà degli atrii, lo tolgo in *3a* e constato che lavoro e ritmo si modificano ; in *3b* applico sullo stesso tratto un'ansa tesa da gr. 40 e la tolgo in *3c* constatando che dopo una serie di periodi il cuore passa ad un ritmo costante.

TRACCIATO VI. — Il tracciato VI offre elementi comuni ai precedenti. In S ed S_1 stimolo il seno tirando leggermente con pinzette un capo del

filo che lega le due cave laterali ; in *1* pongo un'ansa tesa da gr. 10 sulla regione dell'ostio venoso ; in *1a* l'ansa, che fu lasciata *in situ*, è tesa fortemente ed in *1b* è tolta ; in *3* applico l'ansa poco sotto la metà degli atrii ed in *3a* la tendo fortemente ; in *4* faccio una legatura sul solco atrio-ventricolare.

Dal tracciato VI si rileva :

1º Lo stimolo leggerissimo di trazione sul seno (S e S_1) ha per effetto di aumentare il rendimento cardiaco, come l'applicazione dell'ansa in *1*. La dissociazione funzionale si presenta solo dopo la compressione energica *(1a)*.

2º Tolta l'ansa avviene quel che s'osserva in tutti i casi in cui sia compresso il seno, sia transitoriamente che stabilmente, cioè la tendenza al ritorno al ritmo precedente la compressione.

3º Dopo l'applicazione del laccio in *2*, come dopo averlo fortemente teso in *2a*, la curva si abbassa non per arresto diastolico, ma con ritmo quasi invariato e con diminuzione dell'ampiezza delle escursioni cardiache ; in *2b* si abbassa perchè si ha una progressiva completa espansione degli atrii.

4º La compressione in *3* non determina bradicardia.

5º La legatura sul solco atrio-ventricolare provoca abbassamento della curva non per arresto diastolico, ma per violenta tachicardia e diminuzione dell'ampiezza delle espansioni del ventricolo. Nell'ultimo tratto arresto la circolazione del liquido nel cuore per poter contare chiaramente il numero di contrazioni dei singoli segmenti pulsanti. I numeri sono scritti sul tracciato ; il segmento *d* ha ritmo periodico con lunghe pause.

Porto in questo paragrafo un ultimo tracciato allo scopo di chiarire il fenomeno della dissociazione del ritmo e della variazione del lavoro cardiaco in seguito alle compressioni.

TRACCIATO VII. — In *1* dispongo un'ansa tesa da gr. 10 al limite del seno e degli atrii, e la tolgo in *1a*.

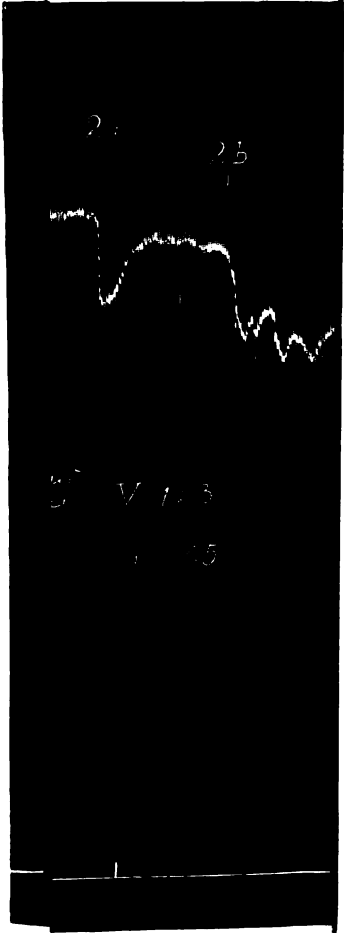
In M arresto il cilindro per un'ora ; durante questo periodo di tempo le escursioni della penna scrivente stanno entro i limiti segnati dalla breve retta verticale.

Ripreso il movimento del cilindro, rimetto 4 volte successivamente l'ansa sullo stesso tratto di prima, in *1b, 1d, 1f, 1h* ; la tolgo successivamente in *1c, 1e, 1g*. Tra *1d* ed *1e* lascio trascorrere un periodo di tempo maggiore che negli altri casi per assicurarmi che la caduta della curva è determinata soltanto dall'allontanamento dell'ansa.

In T tiro fortemente i due capi dell'ansa che avevo lasciato *in situ* a partire da *1h* ; in *1l* tolgo l'ansa.

In *2* la dispongo sulla parte inferiore degli atrii, in *2a* la tolgo.

Porto l'attenzione sui fatti seguenti :

1º Dopo l'apposizione della prima ansa si ha l'arresto diastolico ;

1g
1h
70

dopo l'allontanamento dell'ansa la curva sale violentemente. (Sarebbe risalita, forse più tardi, anche senza togliere l'ansa). Poi ho il ritorno alla tachicardia.

2° Dopo l'apposizione della 2ª, 3ª, 4ª ansa (*1b, 1d, 1f*) la curva sale e non si ha più l'arresto diastolico.

3° Dopo l'eliminazione dell'ansa in *1c, 1e, 1g* il ritmo riaccelera subito ed il lavoro diminuisce.

4° Dopo l'apposizione dell'ansa in *1f* la curva non sale immediatamente, e dopo *1h* non sale più.

5° Dopo la forte compressione eseguita in T il cuore però ritorna a reagire come reagì in *1b* ed *1d*, ma quando tolgo l'ansa (*1l*) la curva non ricade più.

6° Non ho avuto arresto diastolico nè altra variazione funzionale con l'intervento sulla parte inferiore degli atrii.

Parrebbe risultare senz'altro da questo tracciato che le leggere compressioni esercitate sul limite fra atrii e seno modifichino il dromotropismo e che la normale conduzione venga ristabilita in seguito alla cessazione della compressione. Ma diverse considerazioni fanno concludere che le oscillazioni della grafica siano dovute ad altra causa.

1° Non si potrebbe capire come un'alterazione della conduzione possa permettere una elevazione del lavoro.

2° Non si potrebbe capire perchè la conduzione debba essere alterata dopo *1b, 1d, 1f* e non dopo *1h*, dato che la compressione è sempre uguale e sempre nello stesso posto.

3° Non si potrebbe capire perchè dopo la fortissima compressione eseguita in T il cuore debba rispondere nello stesso modo come rispose alle precedenti compressioni di gr. 10. Infatti se la funzione cardiaca era regolata dagli stimoli che partendo dal seno potessero ancora passare sotto l'ansa, dovrebbe essa funzione non svolgersi più nell'identico modo dopo T, cioè dopo che ogni trasmissione è certamente abolita.

Escludo dunque che possa trattarsi di un'alterazione del dromotropismo nel tratto compresso, e ritengo invece che i fenomeni che stiamo esaminando dipendano dalla partecipazione funzionale diretta del tratto compresso, appunto per effetto della compressione. E precisamente :

1° Compressioni identiche ed omologhe provocano successivamente : dapprima arresto diastolico, poi rallentamento del ritmo, poi neppure più il rallentamento. La prima compressione (in *1*), caduta su di un tessuto inattivo, ha tagliato i ponti fra seno e ventricolo, perchè il tessuto è reso incapace a condurre *e non è ancora capace di produrre* ; la seconda e la terza compressione non hanno più trovato un tessuto impreparato a ricevere uno stimolo ed esso ha reagito ; la quarta compressione è stata dapprima inefficace e la quinta infine è stata

inefficace del tutto perchè il tessuto aveva già subìto modificazioni tali che la compressione non costituiva più uno stimolo, per la stessa ragione per la quale la regione pulsante immediatamente superiore alla legatura delle due cave laterali non reagisce ad una compressione.

La trazione fortissima in T non è più soltanto uno stimolo, cioè un fattore che elevi la funzionalità del tratto compresso, sì che sia permessa una certa reversibilità, ma significa l'abolizione di ogni connessione funzionale fra i due segmenti separati dalla compressione, ed allora la parte immediatamente inferiore alla linea di compressione assume in proprio la direzione della funzione cardiaca, perchè la compressione forte deve aver contribuito a determinare condizioni idonee a questo scopo.

La conferma che le compressioni modifichino le condizioni funzionali del tessuto cardiaco l'abbiamo proprio nell'ultima parte del tracciato, nella quale osserviamo che una compressione della parte inferiore degli atrii non ha effetto, laddove si sarebbe invece ottenuto un lungo arresto diastolico se il cuore non fosse stato sottoposto a compressioni precedenti, pur in luoghi diversi. (Su questo punto tratterò in un paragrafo a parte).

2° La ripresa tachicardica seguente alla cessazione della compressione, in *Ic*, *Ie*, *Ig*, dipende dal fatto che è eliminata la causa che determinò il rallentamento del ritmo e l'elevazione del lavoro. Ora questa ripresa rappresenta il ritorno alle condizioni normali del cuore, al semplice ristabilimento della conduzione, cioè allo *statu quo ante*, in cui tutto era subordinato al ritmo di una limitata regione motrice situata allo sbocco delle vene?

Io non credo che sia così, ma ritengo invece che la zona compressa da gr. 10 sia stata sollecitata ad elevare il proprio automatismo, sì che le condizioni nelle quali si sviluppa la sua funzione siano venute infine ad essere uguali a quelle del seno, per cui anche il comportamento deve essere uguale. Così che quando si toglie l'ansa, cioè *si elimina la causa che determinò e mantiene la variazione funzionale*, la porzione che fu compressa assume lo stesso automatismo del seno facendo con questo, almeno inizialmente, un tutto unico. Una conferma di questa spiegazione si ha nel fatto che una *legatura* del seno (tracc. II e III) permette un ritorno spontaneo alla tachicardia ed alla sincronizzazione : evidentemente una parte del seno fu esclusa, e la parte non esclusa assume dopo qualche tempo la funzione del tutto in conseguenza dell'*esaltazione del suo automatismo*.

E' quindi questione di grado : una compressione energica sottrae decisamente una parte del cuore all'influenza della zona motrice superiore e la abbandona a se stessa, mentre la compressione di gr. 10 non separa il cuore in due segmenti definitivamente indipendenti, e quindi non toglie la possibilità che, quando la compressione sia eliminata, tutto possa ritornare allo stato preesistente. La compressione di

gr. 10 è una condizione che modifica la funzionalità della parte compressa esaltandone l'attività automatica, e questa naturalmente si manifesterà nel modo che è consentito dalle particolari caratteristiche funzionali della parte compressa (ampie contrazioni e lentezza di ritmo). Quando la compressione sia caduta lontana dal seno si avrà la semplice ripresa della conduzione, ma se è caduta vicino al seno, al limite del seno e degli atrii, allora deve essere avvenuto qualcosa di più: deve essere avvenuta una esaltazione permanente della funzionalità della parte, così che il tessuto compresso è venuto acquistando una possibilità di automatismo che prima non aveva, ed all'eliminazione della compressione può funzionalmente fare un tutto unico col centro motore normale.

E' avvenuta, secondo me, *una ampliazione della zona automatica motrice*: la zona così ampliata funziona omogeneamente fin che le porzioni distali (rispetto agli ostii venosi) di essa non siano sottoposte ad azioni che possano modificarne la funzione; se però tali azioni sono in opera, la porzione distale assume un automatismo suo proprio e produce onde di eccitamento che nella forza e nella frequenza prevalgono su quelle prodotte primitivamente dal seno: regolano perciò tutta la funzione cardiaca.

Da questo primo gruppo di esperimenti risulta essenzialmente:

Ritmo: Non viene modificato da compressioni transitorie o stabili (legature) della parete pulsante della cava addominale.

Le compressioni lineari circolari anche fortissime del seno provocano dissociazione funzionale, tale che il segmento superiore al tratto compresso non presenta modificazioni apprezzabili del ritmo, mentre il ventricolo rallenta; poi il ritmo ventricolare riaccelera, si che si può raggiungere la sincronia fra i due segmenti.

Le compressioni forti della regione superiore degli atrii determinano pure prima rallentamento e poi graduale riacceleramento del ritmo ventricolare, ma non si giunge più alla sincronia.

In linea generale dunque il seno e la parte superiore degli atrii, resi indipendenti da porzioni soprastanti funzionalmente attive, assumono una funzione ritmica propria che tende a riprendere la frequenza della zona normalmente motrice, che tende cioè ad elevare il proprio automatismo. Una progressione così evidente mi pare un buon contributo alla teoria miogena della funzione del cuore.

Una compressione forte *permanente* (legatura) sulla metà inferiore degli atrii determina prima arresto e poi, alla ripresa, rallentamento progressivo del ritmo fino all'arresto finale; mentre una compressione forte e *transitoria* provoca bensì arresto, ma nella ripresa il ritmo, invece di rallentare progressivamente, riaccelera e tende a diventare regolare. Se la compressione fu preceduta da altre in regioni atriali

superiori, allora di regola nel primo caso il ritmo rallenta progressivamente, nel secondo caso non varia.

Lavoro: Aumenta *transitoriamente* per effetto di compressioni circolari lineari passeggere o stabili, forti o leggere (non meno di gr. 10), che siano esercitate sulla zona degli ostii venosi.

Aumenta *transitoriamente* per effetto di compressioni passeggere e lievi (non meno di gr. 10) sulla parte inferiore del seno e sulla parte superiore degli atrii; *permane elevato* per compressioni forti transitorie o durevoli (legature).

Permane elevato e talvolta aumenta ancora più per effetto di compressioni forti esercitate *successivamente* sulla metà inferiore degli atrii, quando queste compressioni siano *transitorie*, sì che gli atrii possano espandersi liberamente; diminuisce di regola se le compressioni forti sono stabili (legature).

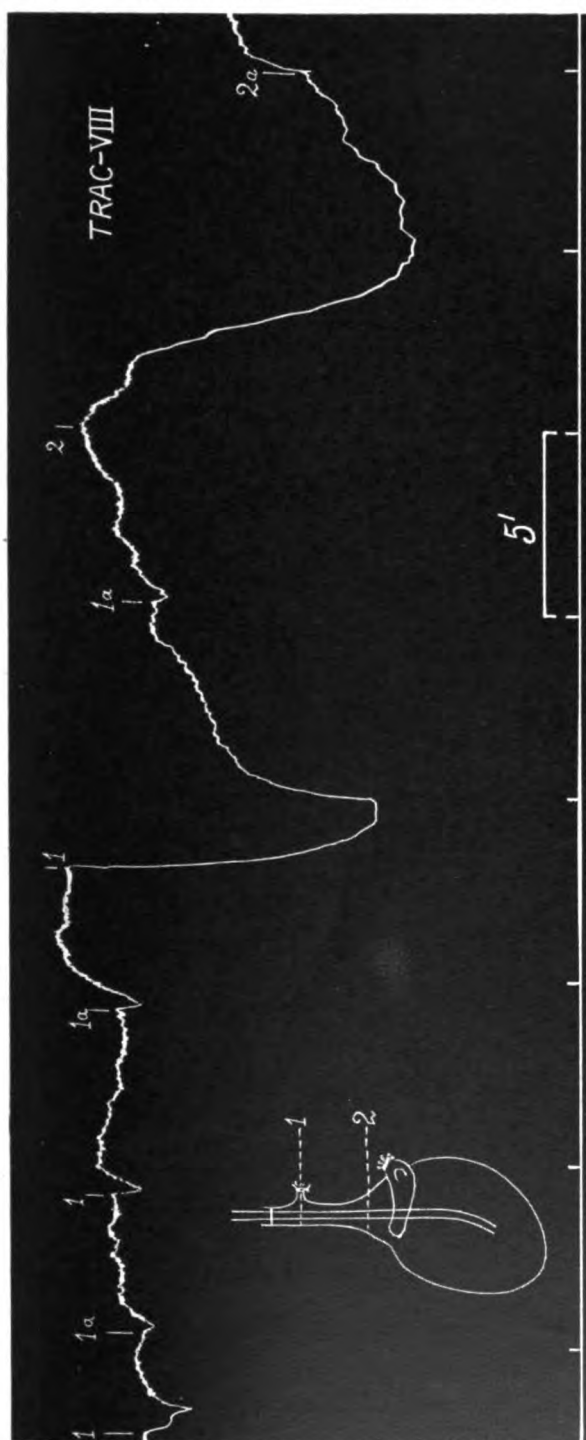
L'elevazione del lavoro determinata in un cuore tachicardico da una compressione iniziale sul seno, o da una compressione non primitiva sulla metà superiore degli atrii é di regola preceduta da una breve fase negativa, nella quale il ritmo si mantiene pressochè invariato; se il lavoro del cuore è già notevolmente elevato, la compressione provoca di regola un breve arresto diastolico od un transitorio rallentamento.

§ III. — Influenza delle compressioni leggerissime sul ritmo e sul lavoro.

TRACCIATO VIII. — In questo tracciato la curva è molto sollevata dall'ascissa perchè ho aumentato la resistenza all'uscita del liquido dall'apparecchio girando a destra la vite micrometrica F, e perchè ho già eseguito due leggere compressioni sul seno. In 1 applico tre volte successivamente, in corrispondenza della legatura delle cave laterali, un' ansa di filo di seta tesa da gr. 4 (gr. 2 per estremità), e tre volte successivamente tolgo l'ansa, nei punti segnati con *1a*. In *2* applico l'ansa sugli atrii, subito sopra al bulbo aortico ed in *2a* la tolgo. Queste operazioni debbono essere fatte con grande prudenza per non stimolare il cuore con una tensione affrettata del filo.

Si osserva che ogni volta che si applica l'ansa il ritmo non varia, ma il lavoro diminuisce, evidentemente per diminuzione della gettata di liquido dal cuore. La terza volta che si applica l'ansa sul seno l'abbassamento della curva è imponente.

E' pure imponente l'abbassamento che segue all'applicazione dell'ansa sulla regione inferiore degli atrii.

Noto che quando tolgo l'ansa la curva, dopo breve caduta, si rialza con rapido andamento. Questo ultimo fenomeno è nel tracciato VIII poco evidente, ma è molto più evidente nel tracciato IX, che riporto per intiero.

TRACCIATO VIII.

TRACCIATO IX.

TRACCIATO IX. — In corrispondenza di *1*, *2*, *3*, pongo un'ansa tesa da gr. 4 rispettivamente sul seno, al limite fra seno e atrii, sulla metà inferiore degli atrii. In corrispondenza di *S* tolgo le anse.

In questo tracciato si vede bene come il lavoro del cuore, per effetto delle deboli compressioni, vada elevandosi scalarmente, con andamento analogo a quello rappresentato dal tracciato I, ottenuto stimolando il cuore con altro mezzo.

La caduta del lavoro in seguito ad una leggera compressione circolare del seno o degli atrii potrebbe essere dovuta :

1° Ad una limitazione della espansibilità meccanica delle cavità cardiache in quanto venga limitata la portata del cuore.

2° Ad una azione inibitrice.

3° A difficoltà di trasmissione delle onde di eccitamento, cioè ad una specie di blocco.

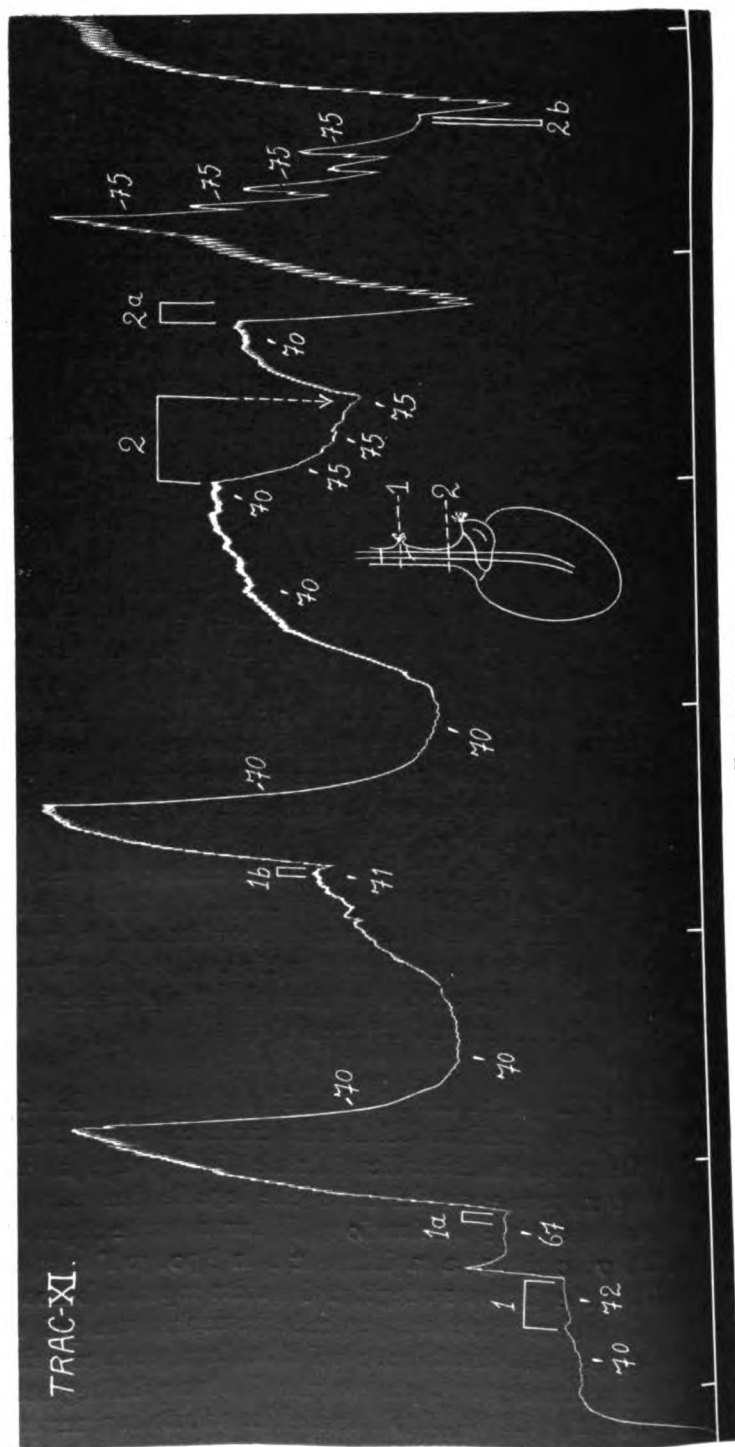
Contro la prima possibilità sta il fatto che gli atrii sono tanto addossati alla cannula che un laccio sul seno non limita per nulla la portata del cuore.

Contro la seconda possibilità sta la considerazione che la caduta della curva avviene non solo quando l'ansa cade sugli atrii, ma anche quando cade sulla regione motrice, la quale non può dar luogo ad un'azione inibitrice.

Secondo me la causa del fenomeno è costituita in linea generale da un abbassamento del valore delle onde di eccitamento che vanno dalle zone motrici al ventricolo, sia per sminuita capacità di produzione, sia per sminuita capacità di conduzione, cioè per effetto di condizioni inotrope o dromotrope negative.

Prima di discutere questa mia opinione credo opportuno di ricordare che la diminuzione del lavoro provocata da un'ansa tesa da gr. 4 è sopratutto evidente quando la funzione cardiaca abbia raggiunto il massimo della sua efficienza *senza che siano avvenute alterazioni del ritmo iniziale*, il che si ottiene o col sistema dei colpi d'ariete (V. tracc. I) o con successivi deboli stimoli meccanici sul seno.

TRACCIATO X. — Col metodo descritto a proposito del tracciato I provoco l'aumento massimo del lavoro cardiaco compatibile con la persistenza del ritmo tachicardico iniziale. In *1* pongo un'ansa tesa da gr. 4 in corrispondenza del nodo che lega le due cave laterali ; si osserva una notevole diminuzione di lavoro utile ; quando tolgo l'ansa (*1a*) il lavoro si rialza rapidamente. In *2* pongo l'ansa, tesa pure da gr. 4, sulla parte più bassa degli atrii, subito sopra al bulbo aortico : si inizia il fenomeno osservato precedentemente, ma poi s'arresta, sopravviene una pausa diastolica e poi si ha la ripresa con ritmo ventricolare rallentato, mentre resta costante il ritmo del segmento superiore all'allacciatura. In *2a* tolgo l'ansa ed ho subito la sincronizzazione

TRACCIATO XI.

dei due ritmi e l'abbassamento della curva, la quale poi si risolleva lentamente e si rialzerebbe completamente, (come ho sempre osservato), se in *2b* non sottoponessi a compressione transitoria fortissima lo stesso tratto di atrii che fu prima compresso leggermente.

Osservo in questo tracciato :

1° Che la compressione di gr. 4 provoca depressione con ritmo invariato, sia quando cade sul seno, sia quando cade sulla metà inferiore degli atrii ; il fenomeno però in questo secondo caso dura poco perchè sopravvengono l'arresto diastolico ed il rallentamento del ritmo. Se invece di portare sul seno o sulla parte superiore degli atrii una sola compressione ne avessi portate parecchie avrei avuto sicuramente una curva regolare come si vede nei tracciati VIII e IX.

2° Che nei periodi in cui il ritmo è rallentato il lavoro non è diminuito, anzi é aumentato. La concordanza dei due tratti di curva, fra *2* e *2a*, e dopo *2b* dimostra che il rallentamento del ritmo provocato dalla compressione di gr. 4 in *2* non dipende più da ostacolo alla trasmissione di onde di eccitamento, ma che queste si generano a livello del tratto compresso.

Tracciato XI. — Provoco l'elevazione dell'efficienza cardiaca con successive leggere compressioni transitorie : in *1* gr. 4, in *1a* gr. 10, in *1b* gr. 10, sempre sul seno ; in *2* gr. 4, in *2a* gr. 10, in *2b* una fortissima compressione sulla regione inferiore degli atrii.

Osservo in questo tracciato :

1° Che la compressione di gr. 4 sul seno è senza effetto, mentre la compressione degli atrii dà la depressione caratteristica, perchè l'efficienza cardiaca è molto più elevata.

2° Che una compressione di gr. 10 sugli atrii provoca un breve arresto iniziale e poi periodi successivi di ritmo lento e frequente.

Una compressione forte determina la variazione permanente del ritmo.

Ora abbiamo qualche maggior elemento per discutere sulle cause della diminuzione del lavoro in seguito a compressioni leggere.

Anzitutto appare fuor di dubbio che nel tracciato X il ritorno alla tachicardia, dopo *2a*, non può esser dovuto che ad una ripresa della conduzione normale, perchè le porzioni inferiori degli atrii non posseggono un automatismo così elevato. Quindi possiamo ritenere che la depressione dell'efficienza che si osserva nei tracciati VIII, IX e XI sia dovuta a difetto di conduzione. Ma lo stesso fenomeno deve avere un altro significato quando è determinato da una compressione leggera sul seno, cioè sulla regione motrice. Esso può dipendere sia da una limitazione della zona motrice, sia da una attenuazione della capacità di produrre onde di eccitamento : in ogni modo esso starà sempre a significare che dalla zona motrice partono onde attenuate.

Quando si sospende la compressione si osserva di regola una rapida elevazione del lavoro, la quale non va oltre al massimo raggiunto precedentemente alla compressione se ad arte si era già elevata l'efficienza al massimo compatibile con l'invariabilità del ritmo; invece va molto oltre all'altezza raggiunta precedentemente se il lavoro non era ancora al massimo. Se l'unico effetto della compressione sul seno fosse una limitazione della zona generatrice mi attenderei una ripresa che non andasse oltre all'altezza prima raggiunta, perchè, sospendendo la compressione, l'azione del segmento escluso verrebbe, nella migliore delle ipotesi, a sommarsi nuovamente a quella del segmento non escluso; ma l'eccesso di ripresa vuol dire che è aumentata la capacità funzionale della zona intiera, cioè che il ricambio è esaltato. Onde si può facilmente pensare che la leggera compressione del seno ostacoli temporaneamente lo sviluppo completo di reazioni, le quali riprenderanno con maggior vigore quando sarà eliminato l'ostacolo, in ragione dello squilibrio che si sarà determinato fra i termini delle reazioni stesse. Insomma io ritengo che la diminuzione del lavoro determinata da una leggera compressione del seno, più che l'effetto di una parziale esclusione di elementi automaticamente pulsanti, sia l'effetto di una temporanea attenuazione di sviluppo di reazioni cataboliche del ricambio della zona che possiede il più elevato automatismo.

Questa mia opinione riceverà più ampia conferma da constatazioni di ordine farmacologico.

Per ora a conferma mi limito a rinviare ai tracciati II, IV e VI, nei quali si vede che una legatura od una energica compressione del seno o della porzione superiore degli atrii possono dare una fase iniziale negativa nella produzione di lavoro senza variazione del ritmo. — Io spiego questo fenomeno con l'ipotesi che il tessuto sottostante al trauma possa mantenere per un brevissimo periodo di tempo il ritmo fondamentale al quale era adattato, ma che lo mantenga con attività *progressivamente attenuata*, perchè il suo ricambio è insufficiente ed inadeguato alla forma della funzione che continua per breve tempo a mantenere. In seguito il tessuto assumerà un ritmo proprio in relazione al suo ricambio, e lavoro e ritmo si svolgeranno secondo le variazioni di esso.

§ IV. — Azione a distanza delle compressioni.

TRACCIATO XII. — Questa tavola è composta di diverse grafiche, scritte successivamente da cuori diversi. Deve dimostrare un fatto che è assolutamente costante, tanto che ho voluto illustrarlo con tracciati successivi scritti sullo stesso foglio di carta affumicata, in modo da escludermi persino la facoltà di scelta fra tracciati di uno stesso gruppo.

La prima grafica è ottenuta portando, in corrispondenza del segno +, un'ansa immediatamente sopra al bulbo aortico, tirando fortemente i due estremi del filo e togliendola subito dopo eseguita la compressione.

La seconda grafica è ottenuta facendo con un'ansa (in St 1) una leggerissima compressione subito sotto alla legatura delle vene cave laterali ; poi in corrispondenza del segno + un'altra compressione identica a quella eseguita sul cuore precedente.

La terza grafica è ottenuta facendo prima una fugace, lievissima compressione (in St 1) subito sotto alla legatura delle vene cave laterali, poi una seconda altrettanto breve, ma più forte (in St 2) nello stesso posto ; infine una fortissima (in +) come nei casi precedenti.

La quarta grafica è ottenuta portando prima, col metodo dei colpi d'ariete, il cuore alla più alta efficienza compatibile con l'invariabilità del ritmo, poi facendo la solita compressione all'estremità inferiore degli atrii.

La quinta grafica è ottenuta lasciando funzionare il cuore per molto tempo senza sottoporlo a stimolo di sorta e poi facendo la compressione degli atrii due volte successive nello stesso posto.

Il fatto essenziale che risulta da questa serie di grafiche è il seguente : l'arresto diastolico che segue ad una forte, transitoria compressione della parte più bassa degli atrii diventa progressivamente sempre più breve quanto più le parti superiori ad essa siano state sottoposte a stimolazioni.

In queste esperienze il numero delle compressioni preliminari fu al massimo di due, portate entrambe al limite del seno con gli atrii (grafica 3*a*), ma se il numero delle compressioni preliminari fosse stato maggiore l'arresto diastolico mancherebbe completamente (V. tracc. IV, VI, VII).

Il tracciato II dimostra che anche in seguito ad una legatura degli atrii l'arresto diastolico può mancare completamente ; mentre se la legatura fosse primitiva, cioè non preceduta da altre in regioni superiori l'arresto diastolico sarebbe molto prolungato.

Prima di chiudere questo paragrafo debbo ancora parlare di un fenomeno che non può essere descritto graficamente. Quando si pone primitivamente sulla regione emiatriale un'ansa tesa da gr. 20 si ottiene l'arresto del ventricolo. Osservando con apparato di ingrandimento si vede che pulsa soltanto la parte della cava addominale che ne forma l'ostio ; poi la pulsazione gradatamente si estende alle parti vicine fin che si vede pulsare tutto il segmento superiore al tratto compresso, con lo stesso ritmo della cava ; la pulsazione ventricolare non si inizia se non quando le contrazioni del segmento escluso avvengono in tutte le sue parti ed hanno raggiunto il massimo. La stessa cosa si osserva se, invece di porre un'ansa permanente, si fa una forte compressione transitoria semiatriale : il ventricolo s'arresta e gli atrii entrano

completamente in riposo eccetto l'ostio della cava addominale, poi la pulsazione poco a poco si estende, *col ritmo della cava*, e quando tutto il segmento superiore alla linea di compressione pulsa in pieno si inizia la contrazione ventricolare, la quale prosegue *con ritmo diverso* da quello della regione superiore. Dunque l'azione che provoca l'arresto del ventricolo non è efficace soltanto per la parte che è a valle della linea di compressione, ma anche per la parte superiore : tutto entra in riposo, eccetto il tessuto dell'ostio venoso. Con la teoria neurogena sarebbe difficile spiegare il caso che aggruppamenti gangliari possano svolgere azione inibitrice nelle due direzioni.

§ V. — Relazione fra lavoro, forza, e ritmo del cuore.

Il lavoro del cuore (naturalmente per noi sempre lavoro in funzione del tempo) dipende dalla frequenza del ritmo e dall'energia delle singole contrazioni, e si può stabilire in modo assoluto dalla quantità di liquido che il cuore espelle nell'unità di tempo sotto una pressione nota, ed in modo relativo coi tracciati che si ottengono col mio dispositivo sperimentale. Se vogliamo con l'espressione energia delle singole contrazioni rappresentare il concetto meccanico della forza dobbiamo considerare la grandezza della superficie comprimente, cioè l'ampiezza della distensione diastolica.

E poichè nel mio dispositivo l'altezza della colonna liquida sovrastante al cuore è approssimativamente costante, possiamo dire che per ciascuna contrazione un cuore normale (normali condizioni inotrope, batmotrope, dromotrope) produrrà lavoro in relazione alla forza che potrà sviluppare, cioè in relazione alla quantità di liquido che accoglierà ed espellerà completamente in ogni rivoluzione : e ciò potrà essere compreso nell'espressione *ampiezza della contrazione*.

L'esame di alcuni tracciati, specialmente del tracciato X, dimostra che si può avere una stessa produzione di lavoro con grandi variazioni di frequenza e di ampiezza. Si può dire che il lavoro è dato dal prodotto della frequenza per l'ampiezza.

$$R = FA$$

Di conseguenza, se per un dato tempo il cuore ha potuto dare un lavoro costante, in quel tempo si verificherà l'uguaglianza

$$R = FA = F_1 A_1 = F_2 A_2 \ldots\ldots$$

cioè in tutti gli istanti in cui si considera la funzione avremo costante il prodotto della frequenza per l'ampiezza della contrazione e la serie dei valori $F, F_1, F_2 \ldots\ldots$ sarà inversamente proporzionale alla serie dei valori $A, A_1, A_2 \ldots\ldots$

Quando varii il rapporto di proporzionalità anche il lavoro dovrà variare, cioè aumentare o diminuire secondo che il prodotto R dei due fattori aumenterà o diminuirà di valore.

Si può paragonare il cuore ad un camminatore : la velocità che questo può raggiungere (considerata come indice del lavoro che compie) dipende da due elementi : frequenza ed ampiezza del passo. Se il camminatore diminuisce la frequenza, ma compensa tale diminuzione aumentando l'ampiezza, può mantenere costante la velocità, ma se non procede ad un tale compenso la velocità diminuisce, mentre se eccede la velocità aumenta.

Così per il cuore : una compressione forte del seno provoca rallentamento del ritmo, ma il rallentamento è largamente compensato dall'aumento di ampiezza delle contrazioni ed il lavoro aumenta. E poichè l'ampiezza della contrazione rappresenta la forza del cuore (considerata meccanicamente), così possiamo dire che l'elevazione del lavoro è dovuta all'aumento della forza del cuore, che si manifesta con l'aumento dell'efficienza cardiaca, *anche se il ritmo è rallentato.*

Una compressione stabile sulla porzione mediana degli atrii o più a valle provoca un forte rallentamento del ritmo, ma questo non è più compensato a sufficienza dall'ampiezza delle contrazioni e così il lavoro diminuisce anche se l'ampiezza, *cioè la forza di ogni contrazione non è diminuita, ma anzi è aumentata.*

E se io interrompo la compressione ed osservo che la produzione di lavoro rapidamente si risolleva, osservo pure che ciò che aumenta non è l'ampiezza, ma la frequenza e quindi che la ripresa del cuore è dovuta non già ad aumento della forza di ogni contrazione, ma all' aumento della frequenza.

Ora consideriamo il caso nel quale si ha elevazione dell'efficienza senza modificazione del ritmo (Tracc. I). Poichè il lavoro del cuore è in relazione con la forza che l'organo può sviluppare, cioè con la quantità di liquido che può espellere in ogni contrazione ; poichè la quantità di liquido che può espellere dipende dalla quantità di liquido che può ricevere in ogni espansione diastolica, così in questo caso, in cui il ri mo non varia, l'elevazione del lavoro dovrà essere attribuita ad aumento di ampiezza delle espansioni diastoliche, ciò che corrisponde ad un aumento della forza sviluppata in ogni contrazione cardiaca.

Nel tracciato I si vede effettivamente che la dilatazione diastolica va sempre aumentando e che l'elevazione del lavoro è dovuta alla maggior gettata di ogni sistole.

E poichè anche leggere compressioni del seno (non meno di gr. 10) provocano una analoga elevazione senza modificazione del ritmo (Cfr. tracc. IX e XI), così dobbiamo convenire che stimolazioni adeguate del seno hanno l'effetto di determinare una maggiore dilatabilità del cuore – diminuzione del tono – prima che venga modificato il ritmo.

Da ciò si possono derivare tre considerazioni :

1° che stimoli leggeri sul seno, aumentando l'espansibilità diastolica del cuore, mettono questo in condizione di sviluppare maggior forza ; la variazione del ritmo è un fenomeno secondario ;

2° che la grande ampiezza delle diastoli provocate dalle forti stimolazioni del seno e degli atrii è una esagerazione di quanto si ottiene con le leggere stimolazioni del seno ; che la uniformità di reazione del cuore a compressioni del seno e degli atrii deriva da una proprietà fondamentale di tutto il tessuto generatore di onde di contrazione ; che l'arresto da compressione primitiva della zona medio-atriale e delle parti atriali più prossime al ventricolo non deve essere considerato come l'effetto di un processo di inibizione, ma come l'estrema manifestazione di questa proprietà fondamentale ;

3° che per ottenere dal cuore un maggior lavoro sulla base di una maggiore dilatabilità diastolica, cioè di una maggiore capacità di sviluppare forza, si debbono interessare zone di tessuto automaticamente contrattile più ampie di quelle che sono normalmente la sede di origine delle onde di contrazione. Infatti le stimolazioni a colpi di ariete eseguite per ottenere il tracciato I possono essere continuate per ore e non si ottiene una ulteriore elevazione del lavoro, nè modificazione del ritmo, perchè non sono sufficienti per estendere la zona attiva.

Dunque, poichè la forza del cuore normale è sviluppata, meccanicamente parlando, in funzione della grandezza della superficie espellente, dobbiamo concludere che un'azione (p. es. la compressione meccanica) che desti od esalti l'attività automatica di zone muscolari sempre più lontane dal seno e sempre più prossime al ventricolo, determina l'accentuarsi di una disposizione favorevole allo sviluppo di forza ; e poichè la quantità di liquido emesso per ogni contrazione nel corso della bradicardia è molto maggiore della quantità di liquido emesso per ogni contrazione durante la tachicardia, dobbiamo ritenere che effettivamente aumenta la forza di ogni singola contrazione.

In altre parole, scendendo dagli ostii venosi al ventricolo, il tessuto contrattile va perdendo l'attitudine all'automatismo, ma possiede una maggior attitudine a provocare sviluppo di forza.

E' interessante studiare se il meccanismo di azione dei farmaci che esaltano il rendimento cardiaco consista nell'esaltazione della funzionalità automatica di zone che siano — per le condizioni particolari del loro ricambio — normalmente in relativo riposo.

Ed ora consideriamo il caso perfettamente inverso : si vede nei tracciati VIII, IX, X che una compressione leggera (ansa tesa da gr. 4) esercitata sul seno provoca una transitoria diminuzione del lavoro senza variazione rilevabile del ritmo. Necessariamente la caduta del lavoro è dovuta a diminuzione delle espansioni diastoliche, cioè, praticamente, a diminuzione della forza delle contrazioni cardiache.

La diminuzione della espandibilità diastolica è data da un aumento del tono muscolare: più volte l'ho constatato osservando il comportamento degli atrii: generalmente i cuori isolati col mio metodo ed appesi al mio apparecchio hanno gli atrii strettamente addossati alla cannula che li attraversa, ma talvolta avviene di osservare che durante la contrazione del ventricolo la parete atriale cede un poco, specialmente nella parte superiore. Se si esercita una breve leggerissima compressione sul seno (gr. 4) la parete atriale non cede più e si addossa anche più strettamente alla cannula.

[Così inversamente la maggiore dilatabilità del cuore dipende da una diminuzione del tono muscolare: se comprimo brevemente e con forza il seno al limite degli atrii il cuore rallenta, ma tuttavia gli atrii restano sempre addossati; se invece comprimo la regione medioatriale il cuore s'arresta transitoriamente, gli atrii si distendono completamente e restano così distesi fin che dura l'arresto e poi durante la bradicardia che segue per un periodo di tempo più o meno lungo. Però quando la curva si risolleva, anche la distensione atriale va diminuendo ed infine scompare completamente (Cfr. tracc. V, 3)].

Chiudo questo paragrafo con le seguenti conclusioni:

1° Le compressioni molto leggere (gr. 4) del seno provocano una diminuzione transitoria del lavoro cardiaco lasciando inalterato il ritmo, e ciò è dovuto a diminuzione della forza del cuore.

2° Le compressioni forti del seno e degli atrii, provocando aumento delle dilatazioni diastoliche, tendono a porre il, cuore in condizione di sviluppare una maggiore quantità di forza e produrre un maggiore lavoro nel corso di ogni contrazione. Siccome però interviene la variazione del ritmo, così la quantità di lavoro sarà data dal prodotto della frequenza del ritmo per l'ampiezza di ogni contrazione, cioè per la forza che questa sviluppa.

3° Le compressioni di gr. 10, o superiori a gr. 10, del seno e di regioni atriali sempre più lontane dal seno provocano un effetto qualitativamente uguale — l'aumento delle espansioni diastoliche — che ha carattere progressivo, nel senso che l'effetto è sempre più grande quanto più ci allontaniamo dal seno. L'aumento della espandibilità diastolica è condizione favorevole allo sviluppo di forza.

Le onde di eccitamento che si generano a valle delle linee di compressione sono parallelamente sempre più forti, od almeno le singole contrazioni da esse determinate compiono un maggior lavoro; il rendimento è naturalmente massimo quando massimo è il valore del prodotto del numero delle contrazioni per il lavoro che ciascuna di esse può eseguire.

4° Tale uniforme progressività nella funzione motrice del seno e degli atrii dimostra che questa è una proprietà fondamentale di tutto il tessuto del seno e degli atrii e depone, a mio avviso, nettamente in favore della dottrina miogena.

§ VI. — Relazione fra lavoro ed accumulo dei prodotti del ricambio.

Tracciato XIII. — In *A* e *D* chiudo contemporaneamente il rubinetto di entrata A ed il rubinetto di scarico G, così che il cuore si svuota quasi completamente attraverso la valvola di uscita D; segno poi le variazioni della frequenza del ritmo. In *B* ed *E* riapro ir ubinetti. In *C* faccio una leggera compressione sul seno.

Osservo:

1° Che il ritmo rallenta notevolmente quando il cuore pulsa a vuoto.

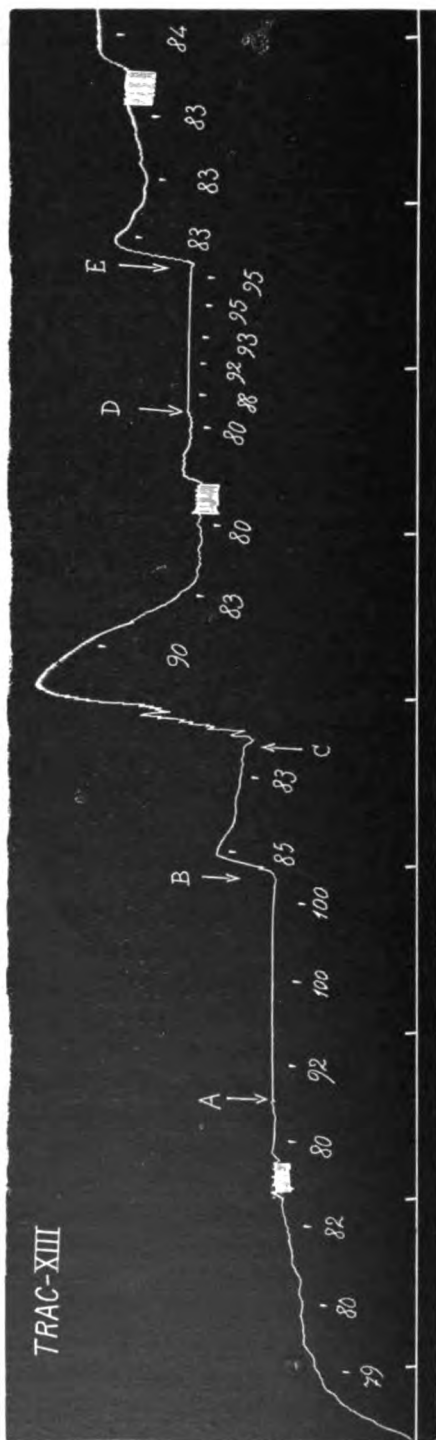
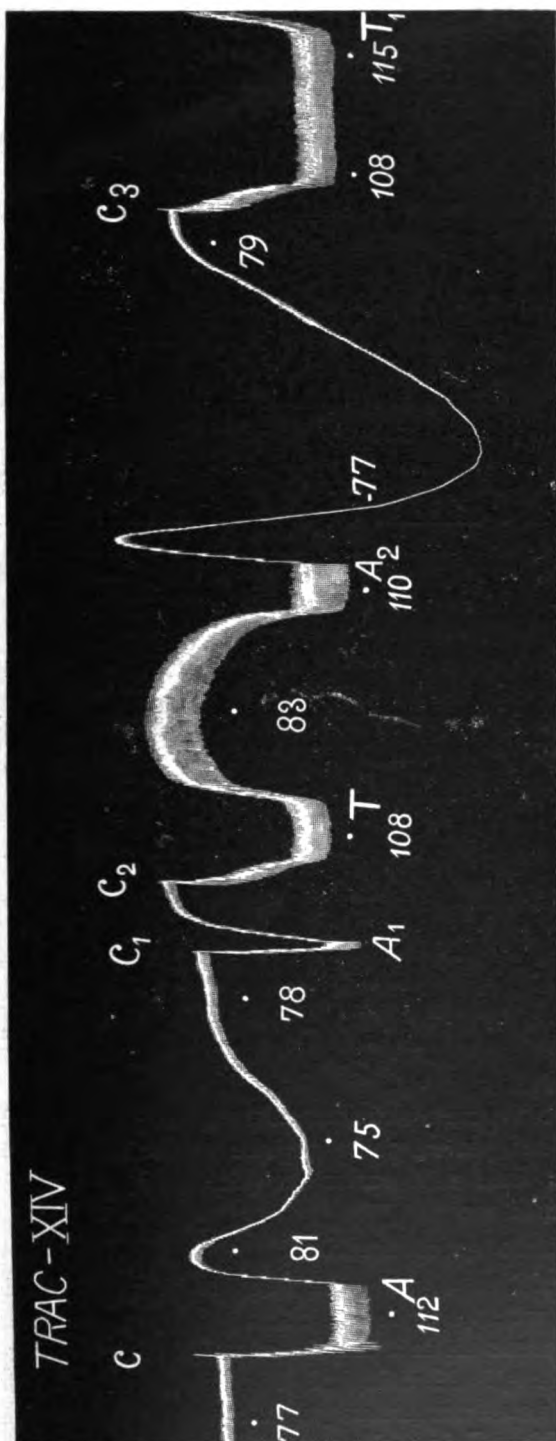
2° Che appena è ripristinato il circolo il cuore riprende il ritmo precedente all'arresto.

3° Che appena è ripristinato il circolo il lavoro aumenta.

Tracciato XIV. — Questo tracciato è scritto dopo aver esaltato l'attività cardiaca con una serie di stimoli, che io chiamo a colpi di ariete (V. tracc. I) e dopo aver lasciato funzionare il cuore per un'ora.

In C, C_1, C_2, C_3 chiudo il rubinetto di scarico G ed escludo contemporaneamente la valvola di efflusso (v. la descrizione della tecnica nel § I). In A, A_1, A_2 ritorno alla circolazione normale. Osservo:

1° In C, C_1, C_2, C_3 la curva si abbassa perchè gli atrii, prima addossati alla cannula, si espandono completamente.

2° In T e T_1 la curva si solleva perchè gli atrii ritornano sponta neamente ad addossarsi

Tracciato XIII

TRACCIATO XIV.

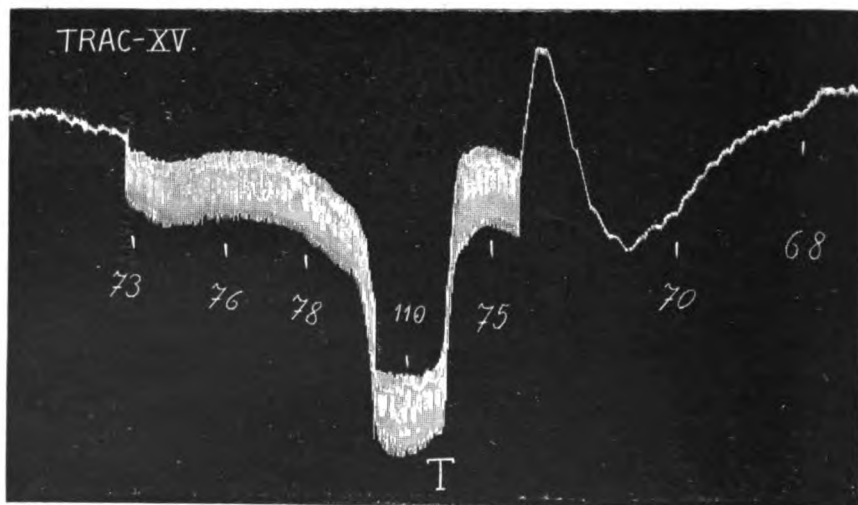
alla cannula, cioè riprendono il tono che avevano sempre mantenuto prima di *C*.

3° La curva, dopo essersi innalzata in I, torna a ricadere percha gradualmente gli atrii ritornano alla diastole più completa e mi risultè da altre esperienze che permarrebbero in questo stato.

4° Quando gli atrii sono completamente espansi il ritmo è rallentato in confronto di quando gli atrii sono addossati alla cannula.

5° Dopo *A* si osserva una caratteristica oscillazione della curva, che si ripete dopo A_2 in misura molto maggiore, mentre invece non si osserva dopo A_1. Il che dimostra che *l'ampiezza di tale oscillazione è in rapporto con la durata del periodo di tempo in cui la circolazione fu arrestata.*

6° Appena ristabilito il circolo (A, A_1, A_2) le orecchiette si addossano rapidamente alla cannula.

TRACCIATO XV. — E' scritto con la stessa tecnica usata per il precedente, ed è destinato soltanto a dimostrare che la dilatazione

TRACCIATO XV.

diastolica può avvenire non immediatamente dopo che è arrestata la circolazione, ma generalmente qualche tempo dopo : cioè che non è l'effetto immediato della variazione delle condizioni meccaniche nelle quali funziona il cuore.

Compariamo questi tracciati :

1° In tutti tre si vede che l'arresto della circolazione normale provoca un rallentamento del ritmo. Si potrebbe ritenere che nel primo il fenomeno sia da attribuire alla diminuzione di pressione endocardiaca, ma negli ultimi due ciò è da escludere, perchè la pressione è invariata, se non è aumentata pel fatto della maggiore velocità con la quale il liquido affluisce al cuore.

2° In tutti e tre si vede che al ristabilimento del circolo il lavoro del cuore aumenta notevolmente.

3° In tutti tre si vede che all'elevazione della curva segue una caratteristica oscillazione negativa.

La concorrenza di queste tre analogie fa ritenere che la causa del rallentamento del ritmo che osserviamo nel primo dei tre tracciati sia la stessa che provoca il rallentamento del ritmo negli altri due casi.

DEMOOR (3) in una bella serie di ricerche sul cuore isolato di mammiferi ha stabilito che tutto il sistema muscolare degli atrii possiede una contrattilità uniforme, che però si svolge irregolarmente nel ritmo e nel lavoro. Il tessuto nodale elabora una o più sostanze, che DEMOOR ha estratto con alcool ed etere, la quale o le quali, poste a contatto con gli elementi contrattili, vi inducono uno svolgimento di attività ritmica regolare. Nulla tende a far supporre, secondo l'A, che la sostanza attiva sia elaborata periodicamente o ritmicamente evacuata verso le fibre contrattili ; ma tutto tende a far ammettere che essa sia eliminata in modo continuo, e che intervenga in modo permanente nel metabolismo del muscolo.

E' dunque direttamente stabilito che uno o più prodotti del metabolismo della regione cardiaca che possiede il più elevato automatismo ha notevole influenza sulla funzione contrattile del miocardio.

Ora, per quanto riguarda le mie ricerche, dobbiamo pur accettare che se un liquido permane nelle cavità cardiache deve caricarsi di prodotti del ricambio dell'organo e che l'accumulo di questi dovrà ripercuotersi sulla funzione dell'organo che li ha prodotti. Le ampie variazioni della tonicità atriale che si osservano quando il circolo è arrestato (T e T_1) e le ampie oscillazioni del lavoro quando il circolo è ristabilito sono la conseguenza di variazioni almeno quantitative del ricambio cellulare e degli equilibrii biochimici dai quali dipende la funzione.

Quando si arresta il circolo di perfusione del cuore si osserva :

1° Un rallentamento del ritmo.

2° Il rallentamento maggiore coincide con la maggiore distensione degli atrii ; quando la tonicità di questi si eleva, il ritmo accelera.

3° Dopo la prima caduta della tonicità auricolare si ha una ripresa transitoria ed infine una caduta definitiva. La curva del lavoro cardiaco che si svolge dopo il ristabilimento del circolo presenta un andamento decisamente inverso perchè deve avvenire nel muscolo un processo inverso a quello che andò svolgendosi nel corso del l'accumulazione.

Quando si esercita una compressione forte sul seno o sugli atrii si osserva :

1º Un rallentamento del ritmo.

2º Il rallentamento maggiore coincide col minimo della tonicità atriale, la frequenza maggiore col massimo della tonicità.

3º Quando l'elevazione del lavoro provocata da una compressione sul seno o sulla parte più elevata degli atrii è giunta al massimo si osservano di regola una o più brevi pause diastoliche oppure alcune grandi escursioni che io ho attribuito, in una mia precedente memoria (4), ad un eccesso di prodotti del ricambio. Successivamente il ritmo riaccelera e la produzione di lavoro può cadere notevolmente più in basso di quanto fosse al momento della stimolazione (Cfr. tracc. XI, dopo 1 *b*), presentando una oscillazione identica a quella che si osserva nel tracciato XIV, dopo A_2. Se ammettiamo che le oscillazioni del tono e del ritmo che si osservano nei tre ultimi tracciati debbano riferirsi a variazioni di concentrazione dei prodotti del ricambio, dobbiamo per analogia ammettere che, anche quando la circolazione dei liquidi di perfusione sia regolare, le oscillazioni della concentrazione dei prodotti del ricambio debbano avere una notevole influenza sulle oscillazioni del lavoro.

Ho quindi ragione di confermare quanto scrissi in una mia precedente pubblicazione (4), che « molto probabilmente è per il cuore una causa di depressione con ipotonia e bradicardia l'accumulo dei prodotti del ricambio. una causa di depressione verso l'ipertonia e la tachicardia la diminuzione della loro concentrazione. »

« La elevatezza della funzione è in relazione con lo stato dell'equilibrio biochimico cellulare : qualunque causa tenda ad allontanare l'equilibrio dalla stazionarietà favorisce la funzione, mentre le condizioni che tendono a stabilire stazionarietà la deprimono ; la depressione è la diretta prosecuzione del movimento che ha provocato l'esaltazione ».

« Non è dunque affatto necessario credere che le sostanze che provocano effetti differenti ed anche opposti debbano avere un punto di attacco determinato, nè che il loro meccanismo di azione debba essere necessariamente diverso ed opposto : esse hanno su tutti gli elementi cellulari, coi quali entrano chimicamente in rapporto, un'azione che modifica l'intensità del ricambio ; questa azione sarà tanto più energica quanto maggiore sarà la loro affinità chimica con termini degli equilibrii cellulari. L'effetto dipenderà dalla direzione e dall'ampiezza degli spostamenti chimici da esse provocati : cioè secondo se gli equilibrii chimici saranno portati verso lo stato più favorevole per lo sviluppo della funzione, oppure se saranno portati verso la stazionarietà o direttamente o in prosecuzione di un movimento che sia stato in un primo tempo favorevole ».

—

CONCLUSIONI.

Il cuore isolato di batraco, isolato ed appeso in condizioni di completa incolumità del seno venoso, presenta una evidente ipertonicità sia degli atrii che del ventricolo e funziona con grande frequenza, con piccola gettata di liquido, con minima esecuzione di lavoro.

In queste condizioni, lievissime e brevi stimolazioni del seno hanno l'effetto di aumentare il lavoro del cuore senza alterarne il ritmo, cioè di aumentare la gettata di ogni contrazione per effetto di un aumento della espansibilità diastolica del cuore, dovuto a diminuzione del tono.

Quando il cuore ha così aumentata la sua capacità di lavoro le compressioni leggerissime e prolungate del seno e degli atrii provocano una oscillazione negativa dell'efficienza ventricolare per effetto di modificazioni del normale inotropismo nel primo caso, del normale dromotropismo nel secondo caso.

Le compressioni lineari circolari energiche *del seno* provocano in ogni caso un aumento di lavoro con rallentamento del ritmo. I due fenomeni sono però transitorii, perchè in breve il lavoro ritorna a diventare scarso ed il ritmo riprende la frequenza iniziale.

Le compressioni lineari circolari energiche *della regione superiore degli atrii* determinano elevazione del lavoro e rallentamento del ritmo che raggiungono in breve un massimo e poi possono mantenersi costanti o possono tendere allo stato iniziale, senza però raggiungerlo.

Le compressioni lineari circolari energiche *della metà inferiore degli atrii* se sono permanenti (legature) e se sono iniziali, cioè non precedute da altre in zone superiori, provocano arresto diastolico prolungato seguìto da ritmo periodico o da contrazioni ampie ma molto rare fino all'arresto. Se le compressioni sono permanenti, ma non iniziali, l'arresto può essere brevissimo o può mancare, il ritmo di regola è molto lento con ampie contrazioni del cuore, ed il lavoro sempre più scarso fino all'arresto del cuore. Se le compressioni sono brevi ed iniziali si ha un lungo arresto e poi la ripresa dell'attività con ritmo lento ed energiche contrazioni cardiache ; se non sono iniziali l'arresto manca ed il lavoro non varia.

Le compressioni eseguite sulle porzoni superiori della regione seno-atriale hanno sempre azione, come si vede, sulle regioni inferiori, in quanto ne modificano la reazione alle compressioni.

Ogni compressione energica, permanente o transitoria, lascia sempre una dissociazione funzionale, tale che il segmento superiore continua a funzionare col ritmo suo proprio ed il segmento inferiore acquista un ritmo più lento.

Il rallentamento del ritmo è sempre accompagnato da aumento della ampiezza delle singole contrazioni e tale aumento è apparentemente sopratutto a carico di una maggiore ampiezza di rilasciamento

diastolico, dal che deriva una possibilità di maggiore gettata di liquido per ogni contrazione cardiaca ; e poichè effettivamente la gettata aumenta, si ha, per effetto dell'amplificazione della diastole, la produzione di una maggiore quantità di lavoro per ogni contrazione ventricolare. Questo fenomeno ha carattere progressivo nel senso che l'effetto delle compressioni è sempre più grande quanto più ci allontaniamo dal seno.

Le onde di eccitamento che si generano a valle delle linee di compressione sono parallelamente sempre più forti (Cfr. tracc. II e relativa illustrazione), od almeno le singole contrazioni da esse determinate compiono un maggior lavoro ; la produzione continuativa di lavoro è naturalmente massima quando massimo è il valore del prodotto del numero delle contrazioni per il lavoro che ciascuna di esse può eseguire.

Tale progressività nella funzione motrice del seno e degli atrii dimostra che questa è una proprietà fondamentale di tutto il tessuto del seno e degli atrii, e depone, a mio avviso, nettamente in favore della dottrina miogena.

Suppongo che procedendo dal seno fino alla regione del bulbo aortico, il tessuto atriale sia sempre meno atto — o sempre più lento — ad elaborare prodotti idonei a determinare l'insorgenza della manifestazione funzionale automatica, così che ogni segmento, quando sia sollecitato ad entrare in attività, abbia un ritmo fondamentale proprio, in dipendenza della velocità del suo ricambio specifico. Ogni segmento è normalmente in riposo apparente — rispetto all'automatismo — quando sia percorso da onde di contrazione che provengano da una regione superiore con una frequenza maggiore di quella che potrebbe esso stesso generare. Quando una legatura separi la regione seno-atriale in due segmenti, il segmento superiore continua a funzionare con la frequenza propria della zona motrice che lo domina, ed il segmento inferiore assume facoltà di automatismo, funzionando con una frequenza minore, in relazione con la minore intensità del ricambio della zona immediatamente sottostante alla linea di compressione.

Ora molte esperienze dimostrano (Cfr. spec. il tracc. IV, dopo la compressione eseguita in 3) che quando il lavoro cardiaco, in seguito ad una compressione forte della regione seno-atriale, è giunto ad una altezza massima, si ha di solito o un breve rallentamento o qualche breve arresto diastolico, al quale segue una tendenza al riacceleramento. Ciò non può derivare che da oscillazioni nella concentrazione dei prodotti stimolanti la funzione. Se produzione ed eliminazione o distruzione non sono in equilibrio si avrà o aumento o diminuzione di concentrazione dei prodotti stimolanti, e poichè nelle condizioni in cui può avvenire accumulo (Cfr. il § VI) la frequenza del ritmo diminuisce, così è lecito dedurre che una causa del rallentamento del ritmo possa essere costituita dall'accumulo dei prodotti del ricambio, ed una causa

di accelerazione dalla diminuzione della concentrazione di questi, sempre quando però la concentrazione sia superiore al fabbisogno necessario per mantenere il ritmo fondamentale del segmento. La costanza dell'esecuzione di lavoro indica che si è stabilito un equilibrio costante fra produzione ed eliminazione, il che non vuol dire che ogni equilibrio sia un equilibrio ottimo ai fini della funzione.

Il ritmo fondamentale di ciascun segmento è quello che si stabilisce quando sia raggiunto il suddetto equilibrio. Se questo non si potrà stabilire perchè il segmento sia troppo lento a formare prodotti stimolanti, allora il ritmo diventerà sempre più lento fino all'arresto della funzione.

Quindi il ritmo deve essere considerato sotto due punti di vista :

1º Un punto di vista comparativo fra diversi segmenti della regione senoatriale, in quanto ciascuno di essi ha una diversa attitudine all'automatismo, risultante molto probabilmente da differenze nel l'intensità del ricambio specifico. Il ritmo fondamentale di ciascun segmento va rallentando col procedere dal seno al ventricolo.

2º Un punto di vista riguardante le variazioni che avvengono in ciascun segmento, ed in questo caso si deve ragionevolmente pensare che le variazioni nella frequenza delle contrazioni dipenda da oscillazioni nella concentrazione dei prodotti del ricambio, in particolare di quelli che hanno azione stimolante. Le condizioni che favoriscono l'accumulo dei prodotti del ricambio,portandoli a concentrazioni superiori a quelle necessarie per mantenere il ritmo fondamentale, avranno l'effetto di diminuire tono e frequenza, le condizioni che permettono la diminuzione della concentrazione dei prodotti del ricambio fino a valori non inferiori a quelli necessarii per mantenere il ritmo fondamentale avranno l'effetto di aumentare tono e frequenza. E viceversa, se il ritmo fondamentale non è raggiunto, ogni aumento di concentrazione dei prodotti stimolanti aumenterà tono e frequenza, ogni ulteriore diminuzione diminuirà ulteriormente la frequenza del ritmo.

La produzione continuativa di lavoro, come ho già detto, risulterà dal prodotto della frequenza per l'ampiezza di ogni contrazione, cioè dalla forza effettivamente sviluppata dalle contrazioni in funzione del tempo. — Da tutto ciò appare chiaro che l'optimum della funzione si avrà quando sarà raggiunto un optimum di concentrazione dei prodotti stimolanti del ricambio e che sarà causa di depressione un eccesso o un difetto di concentrazione di questi, perchè l'una e l'altra evenienza sono rispettivamente la causa o l'effetto di una tendenza verso la stazionarietà degli equilibrii biochimici dai quali dipende lo sviluppo della funzione.

Io ritengo che il cuore non sottratto alla sua innervazione estrinseca, cioè funzionante nella sua piena normalità, dia sempre un rendimento superiore a quello che gli sarebbe consentito dall'attività motrice e dal ritmo fondamentale della zona nella quale si generano

le onde di eccitamento che muovono il cuore isolato ; e che le oscillazioni del lavoro cardiaco, sopratutto se determinate da farmaci, siano dovute non solo a variazioni dell'intensità del ricambio della zona agente motoriamente nel momento in cui si interviene, ma anche o ad una ampliazione o ad una limitazione del campo di origine delle onde di eccitamento. Si dovrà avere nel primo caso un duplice effetto : il rallentamento del ritmo ventricolare e l'aumento della intensità delle onde di contrazione, fenomeni che si possono provocare sperimentalmente sul cuore isolato, se la sede di origine delle onde viene trasportata un poco inferiormente a quella normale, cioè un poco più lontana dagli ostii venosi (Cfr. tracc. II).

E' naturale però che la funzione non dipenda solo dalla concentrazione dei catastati stimolanti e dalle sue variazioni, ma anche dalla velocità di ricostituzione degli anastati, perchè questa ricostituzione rimette l'organo in condizione di rispondere adeguatamente agli stimoli. Anzi l'energia delle singole contrazioni ventricolari potrebbe anche in parte dipendere dall'intervallo che passa fra l'una e l'altra onda di eccitamento, in quanto un intervallo maggiore concede al ventricolo di giungere ad una più estesa ricostituzione del suo materiale anabolico.

BIBLIOGRAFIA.

1. CHIÒ, M. : Un nuovo apparecchio per lo studio del cuore isolato di rana. – *Giorn. R. accad. di Medic. di Torino*. Vol. 85, 1923.
2. CHIÒ, M. : Sulla funzione del seno venoso. – *Id. Id.* Vol 85, 1923.
3. DEMOOR, M. : Contributions à la Physiologie générale du cœur. – *Arch. intern. de Physiol.* T. 23, 1924.
   ID. : Le mécanisme du rythme cardiaque. *Bull. de l'Acad. royale de Méd. de Belgique.* Octobre 1924.
4. CHIÒ, M. : Sull'azione generale dei farmaci. *Arch. per le Scienze mediche.* Vol. 96, 1923.
5. RICHET : *Dictionnaire de Physiologie.* Voce : Cœur.
6. MATHIEU, P. : *Étude exper. et critique sur l'automatisme du cœur.* Th. Nancy, 1914.
7. PIETRKOVSKI : Einfluss experimenteller Vorhofsdehnung auf den Tonus der Ventrikelmuskulatur. *Arch. f. d. exper. Path. u. Pharmak.* Bd. 81, s. 35, 1917.
8. VERTHEIMER et BOULET : Dissociation auriculo-ventriculaire provoquée ou interrompue à volonté. *Journ. de Physiol. et de Pathol. génér.* T. 19, p. 480, 1921.
9. COMBEMALE : Sur le point de départ des mouvements du cœur après la ligature de Stannius. – *Id. Id.* T. 21, p. 86, 1923.

DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY OF THE MEDICAL SCHOOL OF WESTERN RESERVE UNIVERSITY, CLEVELAND, OHIO, U.S.A.

INVESTIGATIONS ON SALINE CATHARTICS.

II. — Magnesium Sulphate on the Peristalsis and the Propulsion in Small Intestines.

BY

TORALD SOLLMANN AND A. RADEMAEKERS.

In the first paper of this series (1) it was pointed out that the effects of Magnesium sulphate on the intestinal movements are still in controversy. There is no doubt that the osmotic water-retention by the unabsorbed salt is an important factor ; but this would not exclude the cooperation of other factors, especially for the prompt cathartic response that may occur clinically. Claims that this salt would increase peristalsis by a direct stimulation of the intestinal muscle (older observers, somewhat more recently MAC CALLUM) (2) have been contradicted by later investigations. Whilst intravenous injections of other cathartic salts may more or less increase the movements of the intestines, this does not occur with magnesium sulphate. On the contrary, this reduces or may even abolish peristalsis (MELTZER and AUER) (3).

TYRODE (4) showed that the activity of the excised intestine is likewise depressed when magnesium is added to the saline bath, and we found (1) that the diminution in the movements and tone of the longitudinal muscle of the small intestines begins with concentrations less than 1:25,000, i.e. considerably lower than those that exist in the blood ; but that the depression increases only slowly with the concentration, so that the movements may still be quite vigorous with 1:1250. In these experiments the magnesium was applied to the serous surface of the intestines.

TYRODE also introduced solutions of the saline cathartics ($MgSO_4$, Na_2SO_4, Na_2HPO_4), into the lumen of the excised intestines and reported that this stimulated the movements and increased the propulsion of the contents ; this stimulation, he thought, would depend upon a

local reflex in the intestinal wall, due to a specific irritant effect of these salts on the mucous membrane. DE HEER (5) tried to repeat TYRODE's experiments, but found that the changes attributed by TYRODE to the magnesium sulphate could also be produced with equal amounts of normal saline solution and suggested that they might be mechanical.

MELTZER (6) however, noted that the filling of the intestines with magnesium sulphate solution prevents the violent peristalsis which usually appears when an animal dies by asphyxia ; so that magnesium would depress the intestinal movements from the interior as well as from the exterior. He assumed that the magnesium had an inhibitory effect, which in some way made the peristaltic propulsion more effective.

Since the time of TYRODE's and DE HEER's experiments, the methods of working on excised intestines have undergone important modifications. With the older methods, indeed, only a small part of the complicated intestinal movements, mainly those of the longitudinal muscle could be successfully studied, whilst the more effective movements of the circular coat, especially the peristaltic waves, being much less in evidence, had received less consideration, and the precautions that are essential for this type of experiments were not fully realized. The work of TRENDELENBURG (7), in which the excised intestine was submitted to distention, generally under a gradually increasing pressure, showed the dominant influence of even slight changes in the pressure or volume of the intestinal contents on the production and intensity of the peristaltic waves, and the relation of these to the tone of the circular muscle. These conditions must be controlled with an accuracy that was not deemed necessary in the earlier work, or they will lead to artifacts that invalidate any conclusions.

The following investigations were undertaken with the special object of applying such controlled conditions to the study of the effects of magnesium sulphate, on the tone and movements of the circular as well as of the longitudinal muscle, on the peristalsis and on the propulsive efficiency of the small intestines of rabbits ; and of comparing the results and especially the minimal effective concentrations, with application of the magnesium to the serous coat and to the lumen. The work comprises five series of experiments :

I. The tone and volume changes of the filled intestine, with external application of magnesium sulphate.

II. Intraintestinal pressure required to produce peristalsis.

III. Arrangements for studying the propulsive efficiency of intestinal segments.

IV. The relief of spasmodic, peristalsis by magnesium ; the antagonism of magnesium to barium spasm.

V. The effects of magnesium sulphate on peristalsis and propulsion in the small intestines, in situ, in living animals.

All experiments were made on the small intestine (upper two-thirds) of the rabbit, segments of 8 to 10 cm length being freshly taken, as needed from the living animal, anesthetized by urethane. As medium LOCKE's solution was used, slightly modified so as to increase the potential alkalinity (1). In order to avoid any variations of osmotic pressure, the magnesium sulphate was added to the LOCKE's fluid as an isotonic solution (3.25 per cent of anhydrous $MgSO_4$). The temperature of the fluids was kept strictly between 38 and 39°C.

I. — The Tone and Volume Changes of the Filled Intestine, with External Application of Magnesium Sulphate.

Method : The first series of experiments was intended especially to study the influence of magnesium sulphate on the behavior of the circular muscle.

This was accomplished by the method described by TRENDELENBURG (7) ; viz., the oral end of the intestinal segment is tied and connected with a lever to record the longitudinal contractions. The aboral end is tied over a cannula that connects with a reservoir of LOCKE's fluid. The intestine is immersed in a bath of warm and oxygenated LOCKE's fluid ; being suspended horizontally, 1 or 2 cm below the surface (instead of the vertical arrangement employed by TRENDELENBURG). A light lever attached to the oral and of the intestinal segment registers the longitudinal movements and tone. The tone and movements of the circular muscle, and especially the peristaltic waves, are reflected in the volume of the intestinal contents, transmitted to the contents of the reservoir, and hence to a tambour (instead of the float employed by TRENDELENBURG). The volume is also affected somewhat by the tone and movements of the longitudinal muscle, but their share may generally be judged by comparison of the two tracings, and by direct inspection of the intestine itself.

NORMAL PERISTALTIC MOVEMENTS OF THE EXCISED SMALL INTESTINE OF RABBIT :

When the reservoir is lowered so that the segment is empty, this behaves essentially like the Magnus preparation ; i. e. it executes merely pendulum movements or perhaps tonus waves (figure I*a*). When the reservoir is raised, the intestine becomes distended. To this distention it responds by shortening and by an increase of tone

(1) The solution employed by us contains, per liter of glassdistilled water :
NaCL 9.0 Gm (instead of 9.2 in the original Locke solution) ; KCl 0.42 Gm ; $CaCl_2 2H_2O$, 0.24 Gm ; $NaHCO_3$ 0.3 Gm (instead of 0.15 Gm) ; Glucose, 1 Gm. This had a pH = 7.8.

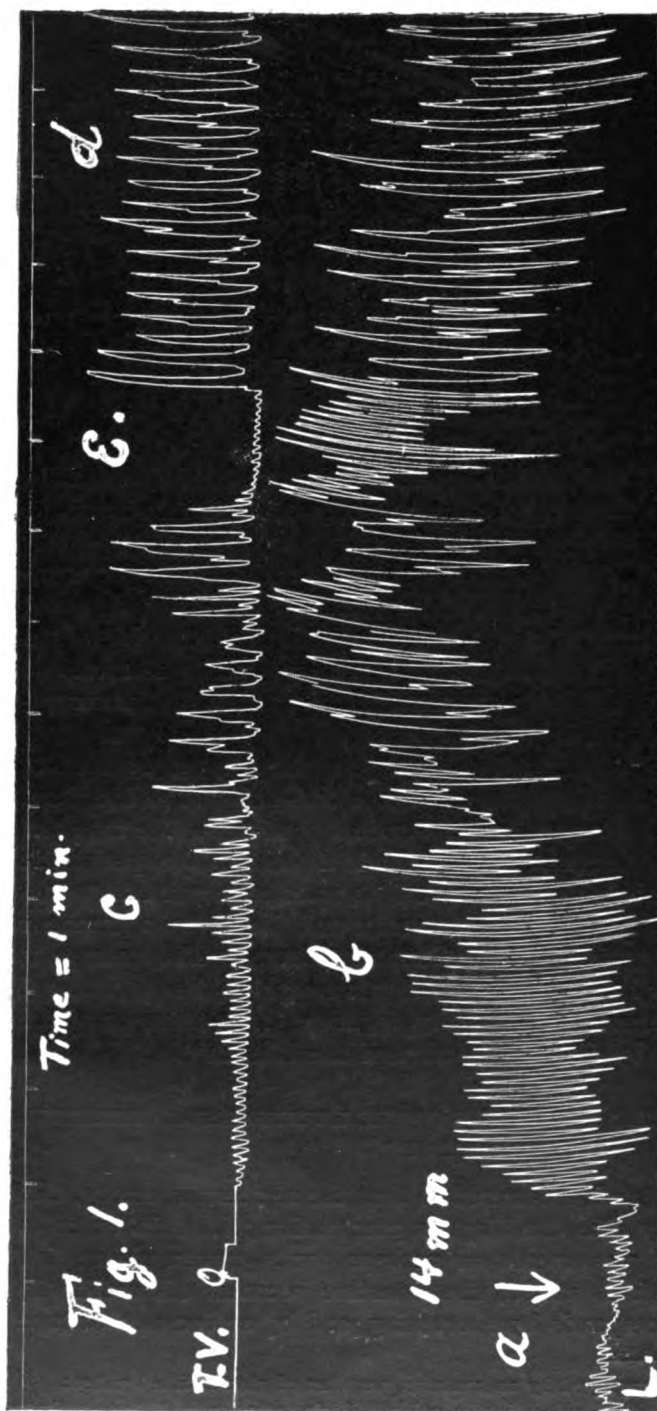



Figure 1 : The initation of peristalsis, segment of excised small intestine of rabbit, Trendelenburg method, constant distending pressure.

Upper tracing : Time in minutes.

Middle tracing : Tone-volume changes from intestinal lumen, by tambour. A rise in the curve indicates diminished volume of the intestinal contents and therefor increased tone of the intestinal muscle, especially of the circular fibers.

Lower tracing : Longitudinal changes, traced by lever. A rise in the curve indicates shortening of the segment, i.e. generally increased tone of the longitudinal muscle.

The tracing starts with a distending pressure of 8 mm, which was raised to 14 mm. at the arrow. The tambour was connected a minute later. (Experiment 11.3.3).

(figure 1*b*). This shortening is not a passive mechanical result of the distention; for although a loop of dead intestine is shortened by distention, (figure 2) this passive shortening is of a much lesser degree, and requires much higher pressures, than with the living intestine.

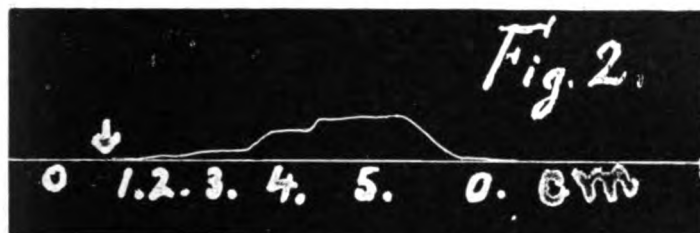



Figure 2 : Shortening of dead intestine by distention.

The segment had been kept in tap-water since the previous day and was devoid of any pendulum or peristaltic movements when placed in the bath and distended. It was therefor dead. The reservoir was raised successively to 1, 2, 3, 4 and 5 cm above the level of the bath. The dead intestine is seen to shorten passively as the result of the distention ; but the changes are very much smaller than those that occur in living intestine (figure 1*b*) ; and the pressures required to produce even these small change were much greater than were used for the living segments.

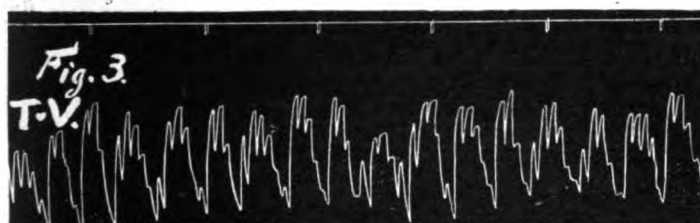



Figure 3 : Superposition of peristaltic waves on tonus waves.

Upper line : Time in minutes (Experiment IV, 1.2.)
The tracing shows seventeen peristaltic waves superimposed on two tonus waves.

(Incidentally this is an excellent model to illustrate the theory of shortening of muscle by transverse swelling, as proposed by WACKER (9). It should also be noted that very exceptionally an intestine may not shorten, and still enter into peristalsis (Exp. VI, 2.1.)

When a certain pressure or tension is reached, peristaltic waves appear, first shallow and irregular (figure 1*c*), then gradually stronger and stronger, with a nearly regular rhythm (figure 1*d*).

The peristaltic waves do not originate from either the pendulum or the tonus waves ; for each of these are still recognizable as independent rhythms superimposed on the peristaltic rhythm ; the tonus rhythm as a shallow « ground swell » of 1/4 to 1/8 of the peristaltic rate (figure 3). Very excitable intestines may show peristalsis

without any distention. Usually, however, more or less distention according to the excitability of the intestines, must be applied to elicit peristalsis. TRENDELENBURG used this to test the peristaltic excitability of the intestines, by increasing the pressure at a uniform rate, and noted the level at which peristaltic waves first appear. We utilized a similar arrangement for the same purpose. Generally, however, we desired to maintain a uniform peristalsis over long periods of time. For this purpose the pressure was raised only to the point necessary to evoke peristalsis ; and was then kept at this level (only 12 or 15 mm above the bath) throughout the experiment. Higher pressures provoke more powerful peristalsis, but fatigue phenomena set in earlier i. e. generally within 20 minutes with pressures of 20 to 25 mm of water.

The peristaltic waves consist of bands of circular contraction, starting at the oral and traveling toward the cecal end of the segment. They are often very regular as to rate, form and stength. Their rhythm varies between two and four per minute. The bands may have a width of 1 to 1.5 cm, in which case a number may be present in the segment at the same time (Type A) ; or they may be so broad that the oral end only begins to relax after the contraction wave has reached the cecal end (Type B). Both types may occur in different loops of the same animal ; and indeed sometimes in the same loop. With both types the contractions tend to follow each other with fair regularity, through the entire length of the segment ; but sometimes either the contraction or the relaxation may be incomplete ; or only a part of the loop may participate in the peristalsis, the remainder being at rest ; or some of the contractions may start more or less distant from the oral end.

The tracings show a marked but complicated reciprocal relation between the changes in the volume and in the length of the segments. During the peristaltic contraction the intestine lengthens and the pendulum movements become more shallow (figure 1*c*, *d*) ; and conversely, between the waves the intestine shortens and the pendulum movements increase (figure 1, *e*). Evidently the two phenomena have a causal relation to each other ; but we are not prepared to throw much light on the mechanism of the relation. The clearest picture is presented by the pauses (figure 4). In these, the rapid relaxation of the peristaltic contraction is succeeded by a prolonged period during which the volume apparently remains stationary (middle tracing). The length of the intestine, however undergoes a steadily progressive shortening (lower tracing), to relax when the next peristaltic wave sets in (figure 1*e*), or perhaps a little before or a little after, a matter than is not easily settled because it is difficult to fix a definite point for the start of the peristaltic wave. These phenomena might be interpreted in the sense that the increase in longitudinal tone in

some way « sets off » the peristaltic impulse ; and that the contraction of the circular muscle then inhibits the tone of the longitudinal fibers. It is also imaginable, however, that during the rest, longitudinal and circular muscle recover their excitability pari passu ; but that the volume method is not adapted to show changes in the circular tone until they reach the violence of peristaltic contraction.

Of the actual lengthening of the segment during peristaltic contraction, generally in direct ratio to the strength of the wave,

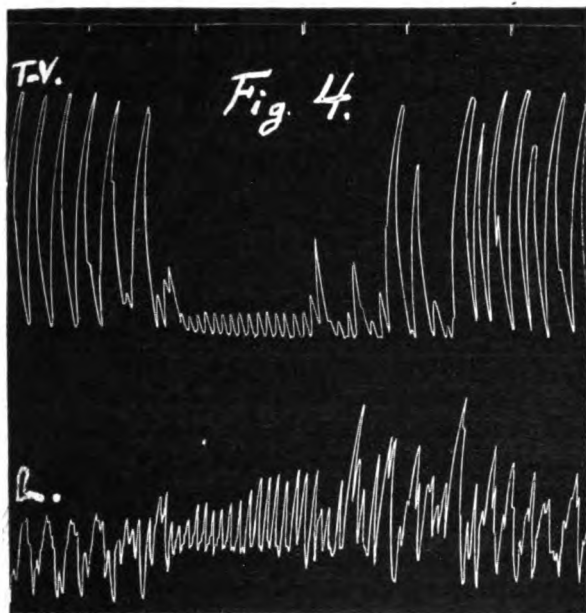



Figure 4 : Reciprocal relation of peristalsis and length of intestine.

Normal tracing with spontaneous pause.

Upper tracing : Time in minutes ; *Middle tracing :* Tone-volume changes; *Lower tracing :* Longitudinal changes.

there is no doubt ; but again it is not easy to decide whether that is a passive, mechanical result of the change of form (as a rubber tube becomes both thinner and longer when it is stretched), or whether this is aided by an actual inhibition of the longitudinal tone. So also with the diminution of the pendulum movements during peristaltic contraction, we cannot say whether this is due to an inhibitory correlation, or to a mechanical difficulty arising from the rigid state of the intestine.

Fatigue Phenomena : These occur if the conditions become in any way unfavorable; most promptly, if an excessive distending pressure is maintained for any length of time. They are peculiarly interest-

ing, because they agree very closely with the effects of magnesium. At first, the peristaltic waves arise and travel somewhat more slowly, so that the rhythm is slowed ; the tracings show a less acute rise of each wave ; pauses appear between the waves ; then gradually longer pauses between groups of contractions, giving irregularly intermittent rhythm. The strength of the individual waves is at first unaltered, for the pauses rest the muscle. As the fatigue increases, however, the waves become more shallow ; they become extinguished before they have traversed the length of the loop ; and eventually they cease. If the fatigue has not gone too far, the contractions may be temporarily increased or restored by raising the distention pressure ; but this of course hastens the ultimate exhaustion.

The length of the intestines, as has been explained, shortens during the pauses, and the pendulum movements become more marked.

CHANGES PRODUCED BY MAGNESIUM IN TRENDELENBURG PREPARATIONS, WITH CONSTANT MINIMAL DISTENTION PRESSURE.

These were studied by adding 4 to 14 cc of isotonic $MgSO_4$ solution (3.25 % of anhydrous $MgSO_4$) to the 1750 cc of LOCKE's solution in which the intestinal segment was suspended. The concentrations therefore range from 1:13,000 to 1:3600 ; usually, however, they were between 1:13,000 and 1:5,000 ; i. e. between 4/5 and two times the magnesium concentration of the normal blood plasma. Within this range, the differences in reaction are greater for different intestines than for different concentrations ; especially as the concentration falls rapidly because of the inactivation of the small quantities of magnesium.

It may be premised that these magnesium effects were found to be purely depressant, with a close resemblance to the phenomena of fatigue. They consist in depression of the tone and of the excitability, especially of the circular muscle ; and consequent diminution or suppression of the peristaltic movements ; whilst there may be a reciprocal increase of the longitudinal tone and the pendulum movements are generally more extensive. In this respect the filled intestine with peristaltic activity differs from the empty and non-peristaltic intestines of the Magnus preparations ; for in the latter the pendulum movements are diminished even by very low concentrations of magnesium sulphate (1). The contradiction is, however, only apparant. As has been shown, there is a reciprocal relation between the peristaltic and the longitudinal movements ; therefor when magnesium renders the peristalsis less active, this tends to produce a reciprocal increase of the longitudinal movements ; unless the depression is so excessive that it overcomes the stimulation.

Figure 5 shows the fully developed effects stet the abolition of peristalsis, the decrease of the circular and in this case also of the longitudinal tone, and the undiminished or rather increased pendulum

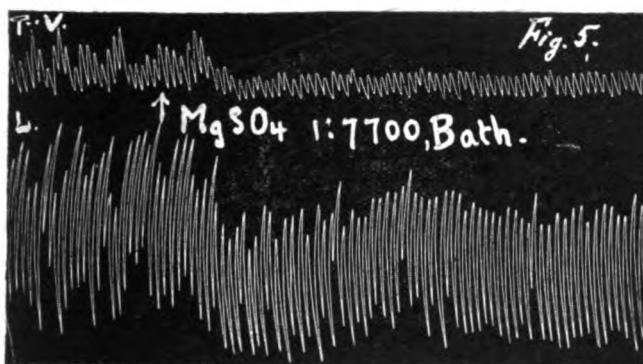



Figure 5 : Full depressant effects of magnesium sulphate on Trendelenburg intestine.

Magnesium sulphate, 1:7700, added to bath at the arrow.

Upper tracing : Tone-volume changes of circular muscle. Note the suppression of peristalsis and the peristent fall of tone.

Lower tracing : Longitudinal contractions. Note the fall of tone, with partial recovery. The pendulum movements are not decreased. (Experiment V. 2.4).

movements. This was obtained by the addition of magnesium sulphate (*) in the proportion of 1:7700. This is a magnesium concentration only one half of that advocated for the intestine by HÉDON and FLEIG (8). It is only one and one half times the concentration of magnesium in normal blood plasma ; and equivalent to the magnesium content of a 1/200 isotonic solution of magnesium sulphate.

With a milder degree of depression (figure 6, magnesium sulphate 1:7700) the volume curve shows occasional shallow peristaltic waves, separated by long pauses. The longitudinal tone rises progressively during the pauses, and relaxes during each contraction proportionally to the force of the wave. It may be noted that the depression was greatest shortly after the magnesium is added, and was followed by rather rapid improvement. This is a constant phenomenon when magnesium is added to the bath, but does not occur when a continuous flow of magnesium solution is maintained (through the lumen). It is therefore evidently due to removal or inactivation of part of the magnesium, whether by precipitation by the alkalinity of the solution or by adsorption on the intestine, or otherwise, we are not prepared to discuss.

(*) The concentrations are always stated as anhydrous magnesium sulphate.

Figure 6 : Submaximal depressant effects of magnesium sulphate on Trendelenburg intestine.

Magnesium sulphate, 1:7700, added to bath at the arrow.

Upper tracing : Tone-volume changes of circular muscle. Note that the peristaltic contractions were rendered more shallow and separated by long pauses.

Lower tracing : Longitudinal contractions. Note the primary relaxation, followed by the rise of tone ; this was again relaxed when peristalsis resumes. The pendulum excursions increased during the peristaltic pauses. (Experiment IV, 1.3).

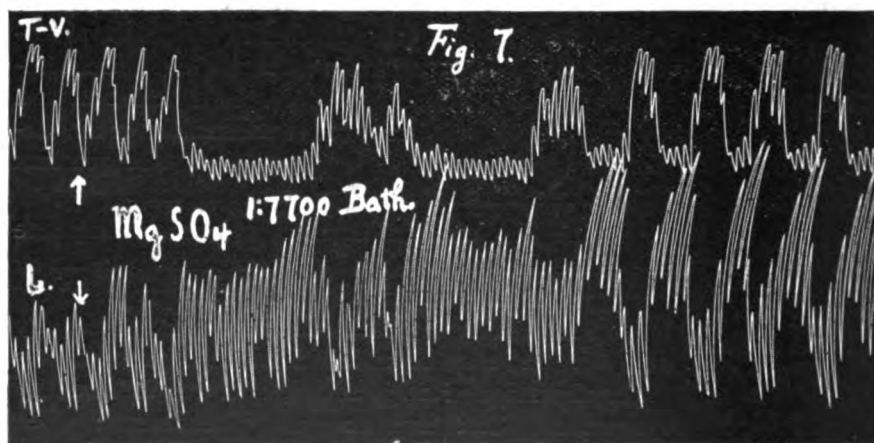



Figure 7 : Moderate depressant effects of magnesium sulphate on Trendelenburg intestine.

Magnesium sulphate, 1:7700, added to bath at the arrow.

Upper tracing : Tone-volume changes of circular muscle. Note the temporary severe depression, followed by partial recovery, with distinct pauses between the peristaltic waves.

Lower tracing : Longitudinal contractions. Note that the longitudinal tone and pendulum movements are stimulated as the circular contractions are depressed. (Experiment III. 4.2.)

This recovery, with still milder magnesium depression, is shown in figure 7 (Magnesium sulphate 1:7700). The immediate effect consisted of rather severe depression, with long pauses but fairly strong peristaltic waves ; the longitudinal tone rose from the start. Within five minutes, regular peristalsis resumed ; but the waves were separated by short intervals, during which the pendulum movements and the longitudinal tone gradually increased and the distention rose considerably above the level that started the peristaltic contraction in the normal intestine, at the left of the tracing. This indicates that

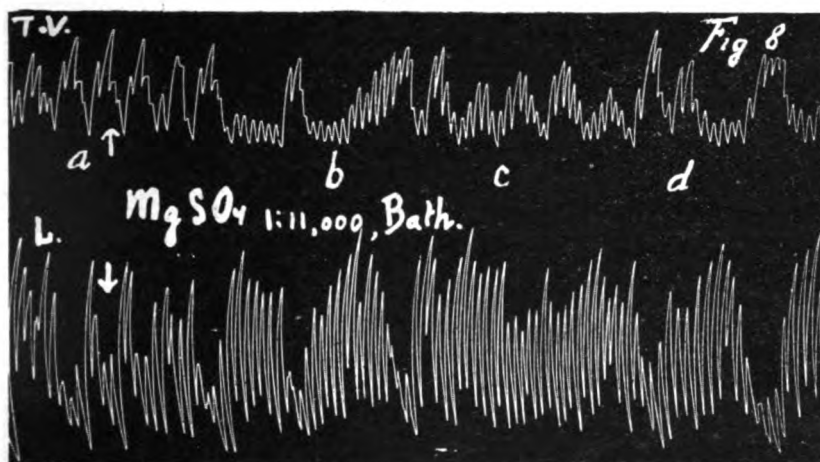



Figure 8 : Mildest degree of magnesium depression on Trendelenburg intestine.

Magnesium sulphate, 1:11,000, added to bath at the arrow.

Upper tracing : Tone-volume changes of circular muscle. Contrasting (d) with (a), note that the smallest discoverable effects of magnesium are depressant. Note also that the peristalsis improved spontaneously between (b) and (d). This is attributed to inactivation of the magnesium in the bath.

Lower tracing : Longitudinal contractions. (Experiment IV. 4.2).

the peristaltic responsivenessis decreased by magnesium. In a short time, however, this depression is off-set by the greater distention and by the longer rest of the circular muscle ; and then a contraction-wave is released, which may be quite as strong as a normal wave.

Figure 8. (Magnesium sulphate 1:11,000) shows that the minimal magnesium effects are also purely depressant ; in this case there were no actual pauses, but the waves themselves are slower and more shallow. This concentration corresponds closely to that of the blood plasma or of TYRODE's solution.

A rare phenomenon should be mentioned for the sake of completeness : In two loops of one animal, the magnesium depression was

followed by a sudden, but very brief peristaltic activity of the longi-

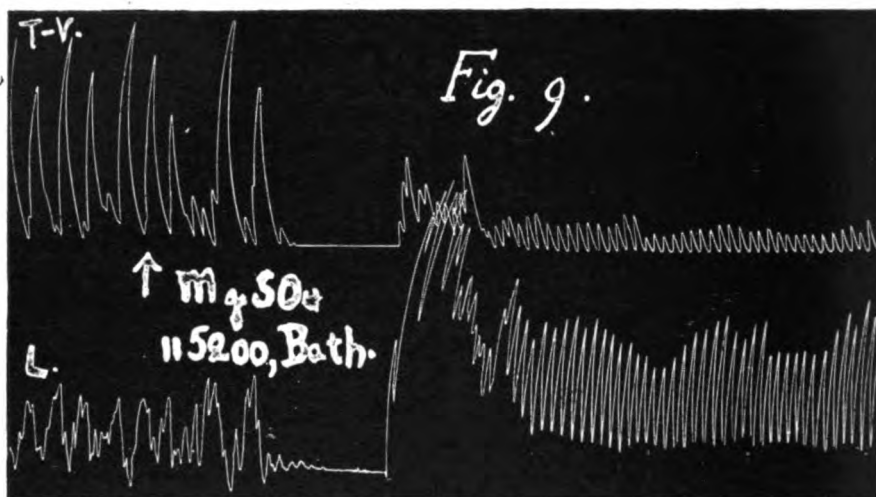



Figure 9 : Rare effect of magnesium.

Magnesium sulphate 1:5200, added to bath at the arrow.

Upper tracing : Tone-volume changes. *Lower tracing* : Longitudinal contractions.

Note the sudden but brief longitudinal spasm, following on an initial pause. This was seen only in one animal. (Experiment V. 5.3).

tudinal muscle, shown in its most marked form in figure 9 (Magnesium sulphate 1:5200).

II. — Intraintestinal Pressure Required to Produce Peristalsis.

TRENDELENBURG laid particular emphasis on this feature as characterizing the effects of drugs. We employed his arrangement with the slight modifications already described. Instead of raising the pressure bottle continuously, we raised it 1.4 mm in 5 seconds, then rested 10 seconds, then raised it further 1.4 mm, and so on, in the same tempo, until peristalsis starts. After three or four waves, the pressure-level was again reduced to zero. A pause of 4 to 8 minutes was then allowed before the next trial.

The empty intestinal segments exhibit usually only longitudinal pendulum movements, but exceptionally the circular coat participates with segmental and sometimes even with wave-like contractions.

This was seen especially in the loops of an animal whose peristalsis had been stimulated by the injection of a toxin.

When the intestine is distended by gradually raising the pressure-

bottle, the longitudinal muscle shortens considerably and shallow circular contractions appear (figure 10), or become stronger, if present before. The tone of the longitudinal and the activity of the circular

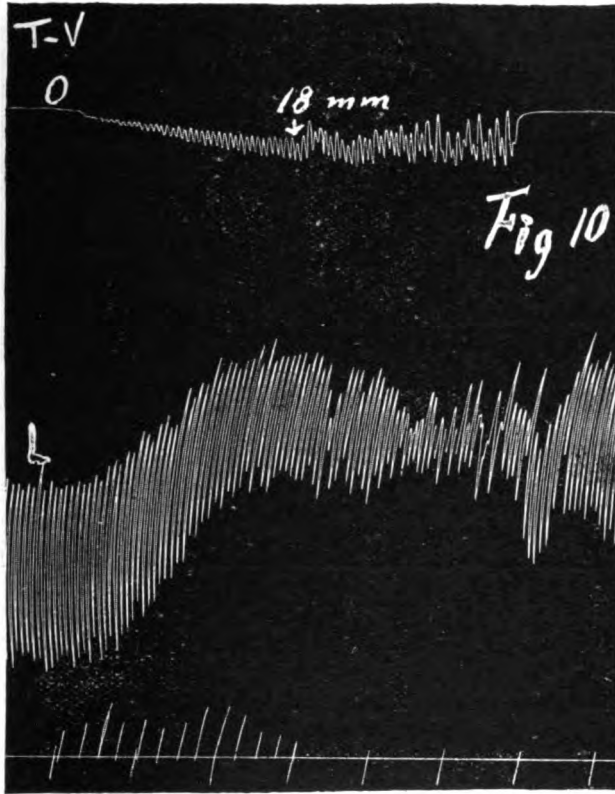



Figure 10 : Distending pressure required to produce peristalsis, Trendelenburg arrangement.

Upper line : Tone-volume tracing from reservoir, to show peristaltic waves. These appeared when the distending pressure had been raised to 18 mm of water.

Second line : Longitudinal tracing : Note that the intestine shortens as the pressure rises, until peristalsis sets in, when it lengthens somewhat.

Third line : Rise of intraintestinal pressure. At each mark the reservoir was raised by 1.4 mm.

Fourth line : Time in minutes. (Experiment V.1.4 and 5 ; Figs. 10, 11 and 12 form continuous tracings).

muscles continue to increase with the pressure, until the peristalsis starts. This may occur by gradual transition from the shallow circular contractions, so that there may be some difficulty in assigning the exact moment when peristalsis begins. Usually, however, this is signalized quite well by the occurrence of a much stronger contraction

ring, at the oral end of the segment ; but the observation was always confirmed by waiting for three or four definite waves. The pressure was then rapidly reduced to zero. The segments often lengthen somewhat, i. e. lose tone, whilst the pressure is being reduced, then again

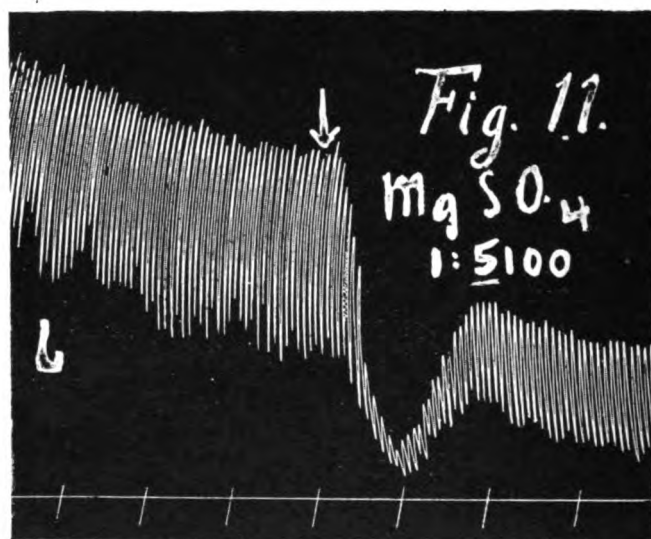



Figure 11 : Effects of magnesium sulphate on longitudinal tone.

Magnesium sulphate, 1:5000, added to bath at arrow, produces marked reduction of tone, and of pendulum movements. The tracing was taken immediately after that of figure 10, and shortly before that of figure 12.

increase in tone, and finally the tone gradually falls to the original level (figures 10 and 11).

During the first fifteen to twenty minutes after the removal of the loop the pressures necessary for peristalsis are apt to vary rather widely. The determinations are therefore postponed until after that time. Then, when two or three tests had given essentially identical results, isotonic magnesium sulphate solution was added to the bath so as to make the concentration of absolute $MgSO_4$ as 1:10,000 to 1:5000.

THE EFFECT OF MAGNESIUM SULPHATE ON THE PRESSURE REQUIRED TO PRODUCE PERISTALSIS.

The magnesium was applied, as described, to nine loops, obtained from five rabbits. The typical result is illustrated in figures 10 to 12 ; figure 10 shows the phenomena of the unpoisoned loop. In figure 11, magnesium sulphate was added, resulting in a considerable depression

of tone. In figure 12, the distention test was again applied ; it is seen that this required 34 mm of pressure to start peristalsis, as against the 18 mm that sufficed in the normal intestine (figure 10). A few minutes later, when the intestine had somewhat recovered, peristalsis set in with 25 mm ; and after further recovery, it occurred with 19 mm.

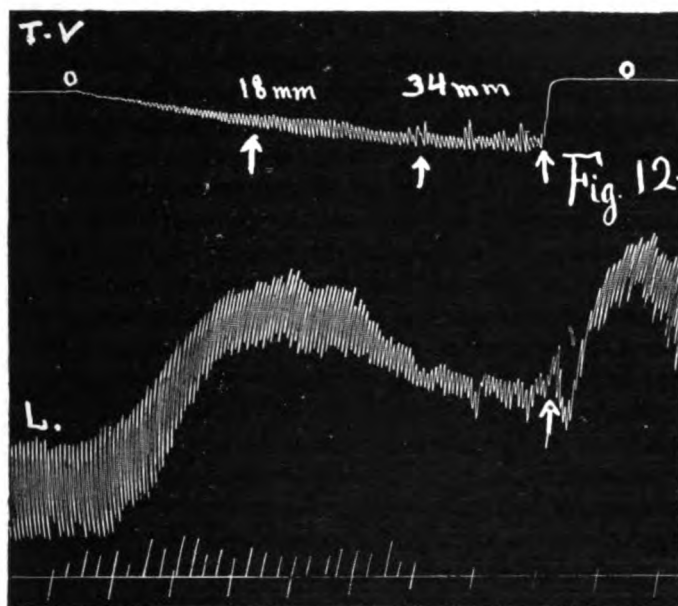



Figure 12 : Effects of magnesium sulphate on the distending pressure registered to start peristalsis.

The figure should be compared with figure 10, taken from the same segment before the application of magnesium sulphate (1:5100). The tracings are arranged in the same order. The upper tracing shows that there was no sign of peristalsis at 18 mm, the pressure that started peristalsis before the magnesium ; but that a feeble peristalsis started when the pressure reached 34 mm. The lower traing shows that the longitudinal tone increased with the pressure to a certain point (about 23 mm.) ; but that higher pressures decreased the tone fairly rapidly. When the pressure was removed, the longitudinal tone increased temporarily ; then it declined gradually to nearly the normal level. When the pressure was reapplied after the magnesium depression had partly passed away 25 mm sufficed to start the peristalsis.

The response of other loops was very similar and varied only in degree: the depression of responsiveness to distention being almost strictly parallel to the depressant effect of the magnesium on the movements of the unfilled intestines. In no case was there any sign of stimulation ; i. e. in no case did the magnesium cause the peristalsis to start from a lower pressure.

It must therefore be concluded that magnesium, by lowering the tone of the intestinal muscle, renders it less responsive to distention, so that a greater distending pressure is needed to start peristalsis.

III. — Arrangements for Studying the Propulsive Efficiency of Intestinal Segments.

The foregoing experiments left no doubt but that the direct effects of magnesium on the peristaltic movements are depressive. This depression would not necessarily exclude the possibility of a favorable effect on the propulsion of the intestinal contents ; such for instance as was suggested by MELTZER ; or the reduction of the median tone might favor propulsion, especially in spastic conditions, by widening the intestinal lumen. These questions could only be answered by measuring directly the propulsive efficiency. TYRODE attempted to demonstrate this by the flow of a starch paste through the intestine; and DE HEER tried in vain to confirm his results. At that time, however, the great sensitiveness of peristalsis to pressure was not realized, and proper precautions were not taken. An arrangement that could be adapted to this end was described by MAX BAUR (10). We employed the following method (figure 13).

The perfusion fluid (the modified LOCKE's solution, with or without magnesium) flowed from a reservoir Mariotte bottle through a Woulff bottle set into a water bath, where it was heated to 38-39° C. From here it was conducted to a cannula (a, figure 13), tied into the oral end of a fresh 7 to 10 cm segment of small intestine. This was suspended horizontally in a glass jar of LOCKE's fluid, one or two centimeters below the level of the fluid. This jar was also set in the same waterbath. The caecal end of the intestinal segment was tied over a cannula shaped as in figure 13*b*. The first side-tube (c) of this was connected with a tambour to record the peristaltic pressure changes ; the further end was bent and led out of the bath to an L shaped outlet cannula, figure 13*d*. A thin rubber membrane was tied snugly, but without stretching, over the end of this cannula. The membrane was slightly slit on one side just over the rim of the cannula, making a valve that prevented the fluid in the cannula from flowing back into the intestines during the peristaltic pauses and thus to escape measurement. The orifice of the outflow tube was adjusted 12 to 15 mm above the level of the LOCKE's fluid in the bath. The lower end of the Mariotte tube in the reservoir was adjusted at the same level, or a trifle lower, so that no fluid would run passively out of the intestines, but only as propelled by peristalsis.

The outflow was recorded by a dipping Archimedes-bucket, which marked a signal on the drum each time that it was filled and discharged its contents of 7 cc. The pressure and volume changes, which reflect the peristaltic activity of the circular coat, were reflected by the tambour tracing. The longitudinal movements were recorded by a light lever, attached to the serosa at 2 or 3 cm from the oral end;

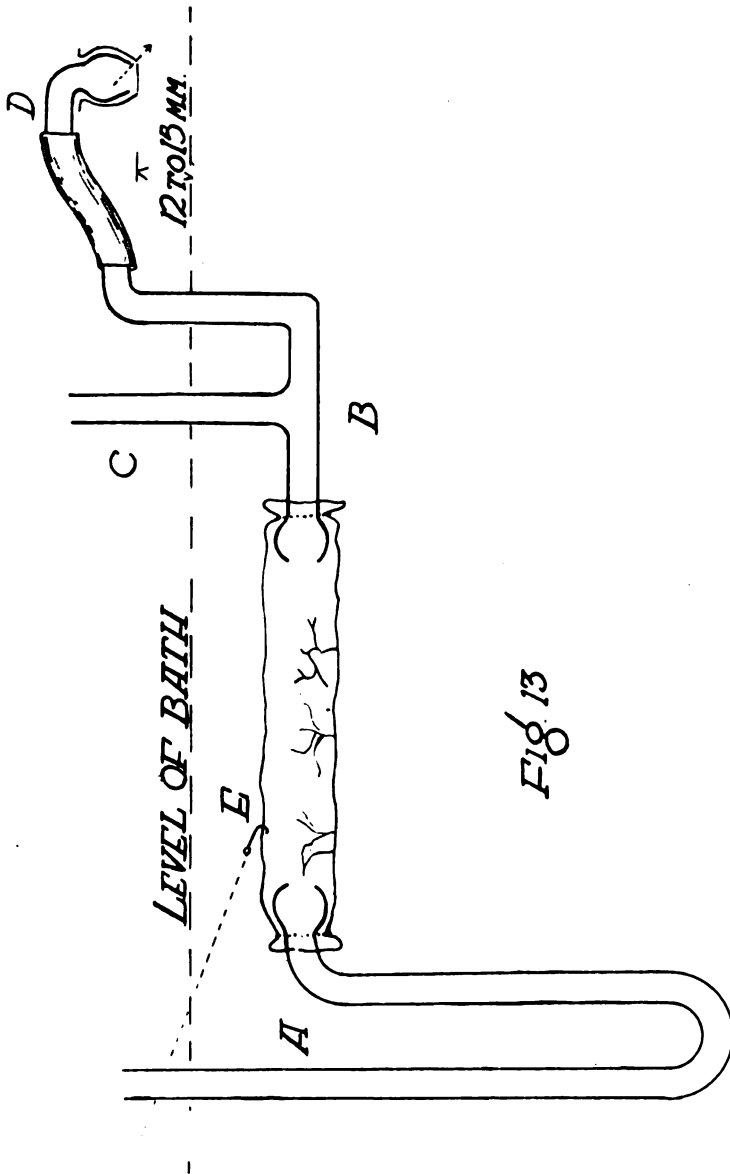



Figure 13 : Arrangement for measuring the propulsive efficiency of the intestines.

(a) : Oral cannula ; (b) : caecal cannula ; (c) : branch to recording tambour; (d) : outflow cannula with membrane-valve. The outflow and the air-tube of the Mariotte bottle are adjusted at 12 to 15 mm above the level of the bath ; (e) : pin and thread to lever recording the longitudinal contractions.

the connecting thread being in an inclined plane (figure 13*e*), so that the traction would be fairly in the plane of the length of the intestinal segment.

With this arrangement fluid flows into the oral end and distends the segment till it provokes a peristaltic wave. This pushes the liquid before it toward the cecal end and expells it through the cecal cannula. When the wave has passed, the intestine relaxes from the oral end, and as it does so, it fills with fluid from the reservoir and the process is repeated. This arrangement reproduces the physiological conditions much better than the original TRENDELENBURG method. On the other hand, it does not permit as good records of the movements and these records are more difficult to interpret. The most useful results are obtained by employing both methods, and checking them against each other.

For studying the effects of magnesium from the serosa, the isotonic solution was added to the bath, as in the previous series and in the same concentrations.

The investigation of the effects of magnesium from the mucosal surface was particularly important, since the stimulation theories of magnesium catharsis generally assume a special irritant action from this direction. This can only be studied by comparing the intestinal movements when the lumen is perfused alternately by LOCKE's solution with and without the addition of magnesium sulphate. For this purpose, a second pair of bottles exactly similar to the first pair, was connected to the inflow through a Y piece, furnished with cocks so that either solution could be admitted. Both Mariotte bottles were on the same adjustable stand, so that they could be simultaneously raised or lowered, after they had been painstakingly adjusted at equal heights and with equal resistances, so as to give an exactly equal flow when the cock was changed from one to the other. This must be confirmed before each experiment. The absence of any disturbance in the tracings at the moment of changing (figure 14) shows how smoothly the change can be effected. The magnesium concentrations must be taken 6 to 8 times higher than with the external application ; their magnesium concentration corresponded from 1/50 to 1/2 isotonic.

THE NORMAL MOVEMENTS WITH THE PROPULSIVE ARRANGEMENT.

With pressures of 12 to 15 mm, the peristaltic activity usually starts promptly after immersion. During the first fifteen minutes the longitudinal tone relaxes slightly ; by twenty minutes the average tone has reached a constant and the peristalsis has become quite regular ; more regular, in general, and with less fatigue, than with the TRENDELENBURG arrangement. Otherwise the movements are very similar in both methods.

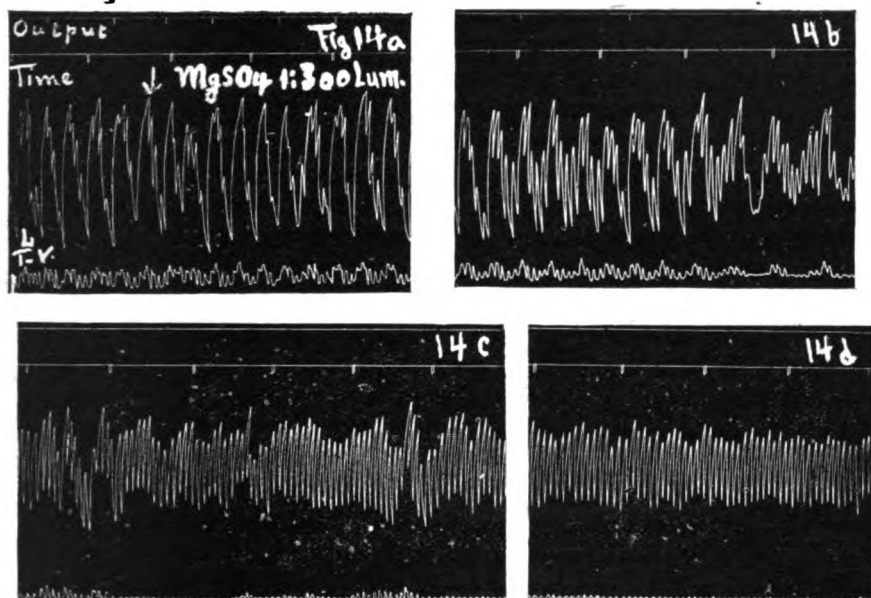



Figure 14 : Successive degrees of magnesium depression : propulsive arrangement.

The lumen of the intestinal segment was connected with Locke's solution, which was propelled by the peristalsis, at the rate shown in the uppermost line (about 7 cc per mark). The peristalsis of the 7 cm segment therefor pumps about 10 cc of fluid per minute.

The second tracing is the time in minutes. The third is the longitudinal tracing, and the fourth, the intraintestinal pressure.

(a) At the arrow the connection is switched from the ordinary Locke's solution to another bottle containing Locke's solution diluted with 1/10 its volume of isotonic magnesium sulphate. This gives a magnesium sulphate concentration of about 1:300, which from here on passes through the lumen of the intestines. Note the absence of immediate change in the tracings, showing that the outflow from the two bottles had been accurately adjusted at an identical speed and pressure.

(b) This begins seven minutes after the admission of the magnesium. Note the depression of the peristalsis and the greatly slowed propulsion (upper line).

(c) Begins seventeen minutes after the magnesium : Only rare and feeble peristalsis. The pendulum movements were strong, but with no propulsion.

(d) Begins twenty-six minutes after magnesium. Peristalsis arrested. Pendulum movements strong ; no propulsion. Note that the effects are progressive : since the magnesium is constantly renewed, there is no spontaneous recovery, such as occurs when the magnesium is added to the stationary bath. (Experiment XI. 1.1).

The description of a vigorous but slow peristaltic cycle may be started at the period when a peristaltic wave has just died out, and when the segment is relaxed, distended and pulsating through its entire length with the continuous pendulum rhythm. Each of these contractions becomes somewhat stronger than its predecessor. Then a circular tonus ring begins to form at the oral end, and spreads gradually toward the cecal end; stripping the contents before it out of the cecal end, and obliterating the lumen, so that the intestine, appears as a solid hard, rigid cord, of perhaps a fourth of the diameter that it had when relaxed. This reduction of the transverse diameter is accompanied by a corresponding increase in length, exactly as in the forward movement of an earthworm. The rigidity of the cord would evidently interfere with the gentle pendulum movements ; so that the latter are abolished. The cord may persist for some movements ; then the muscle begins to relax from the oral end and the relaxation wave spreads to the cecal end with about the same speed as did the contraction wave. With the beginning of the relaxation, the longitudinal pendulum movements reappear and the intestine distends with fluid from the reservoir, the relaxation and distention and pendulum movements increase, and so the cycle is completed and repeated.

Ordinarily, these events succeed each other more rapidly than the description would suggest, for the duration of the normal cycle is from 15 to 30 seconds ; nor are the phases always so sharply defined. Indeed it may often happen, especially with low pressures, that the peristaltic contraction wave is not so powerful, in which case it may fade a few centimeters behind its head, so that there is room in the segment for two or three waves at the same time, travelling behind each other. In that case the intensity of the successive rings generally increases and decreases with a rhythm corresponding to that of the full peristaltic waves. The longitudinal movements may then persist throughout, their intensity varying inversely to the intensity of the peristaltic activity. This « beaded type » of peristalsis appears to be in principle merely a less vigorous form of the « cordic type » first described, and the two shade insensibly into each other.

The cordic type, by further intensification, passes into the spasmodic type, seen especially when barium is added, where the relaxation is incomplete, giving insufficient refilling of the intestine, and therefor poorer propulsion. On the other hand, in depressed conditions, the peristaltic constrictions are not sufficiently powerful to obliterate the lumen and to propell the contents ; and at the lower extreme of excitability, the circular contractions are entirely absent, the segment is merely passively distended, and exhibits only longitudinal movements without propulsion.

Occasionally, the excitability of the segment does not follow the regular gradient. The wave may die out before it reaches the

cecal end ; or some of the waves may start some distance from the oral end, in which case there is blocking and interference ; rarely there may even be antiperistalsis ; but these irregularities are generally only temporary.

Another peculiar type is often seen during the first twenty minutes after excision. It consists of shallow, rapidly progressing waves, apparently isochronic with the pendulum movements ; or short contraction bands form at either end, and progress more or less. These movements gradually change into the usual type of deep, slowly progressing waves.

The amount of fluid pumped by the normal peristalsis of a 7 to 10 cm segment varies considerably, but under 12 to 15 mm. distention pressure it amounts usually to 7 to 10 cc. per minute.

MAGNESIUM SULPHATE ON THE PROPULSIVE EFFICIENCY OF INTESTINAL SEGMENTS.

It may be premised that the effects are identical whether the magnesium is applied to the serous surface by means of the bath, or to the lumen by means of the perfusion fluid ; one description therefore applies to both. The sole difference is in the concentration ; a given effect requires a concentration 6 to 8 times higher when it is to be produced from the lumen. On the other hand, the effects of external application retrogress spontaneously, by the inactivation of the magnesium ; whilst those from the lumen persist, since the fluid is constantly renewed. Indeed, when the exchange of perfusing solutions is repeated several times, the effects of the magnesium appears to increase ; presumably the epithelium becomes more permeable.

The effects of the magnesium on peristalsis are of course identical with those of the TRENDELENBURG method ; i. e. they are purely depressant. The special object of this arrangement, the propulsive power, is found to suffer a corresponding decrease with all effective concentrations, and in practically all normally contracting segments, but when the peristalsis is spasmodic i. e. when the intestine does not relax sufficiently between the peristaltic waves, then magnesium increases the propulsion by permitting or effecting a better filling of the intestines in the peristaltic diastole.

Figure 14 shows the successive stages of peristaltic depression as produced by the addition of 1/10 of isotonic magnesium sulphate (i.e. a concentration of 1:300) to the LOCKE's solution propelled through the intestinal lumen. The first tracing shows very little change in the vigorous « cordic » waves, but the signals on the upper tracing are already somewhat farther apart, i. e. the propulsion was slowed. In the second tracing, the peristaltic waves become progressively beaded

and then somewhat intermittent ; and the flow-marks become correspondingly more distant. In the third tracing the peristalses are weak and intermittent, and the propulsion is quite abolished. In the fourth tracing the peristalsis is quite suppressed. Similar cessation occured also on adding the concentration of 1:600 (1/20 of the isotonic $MgSO_4$)

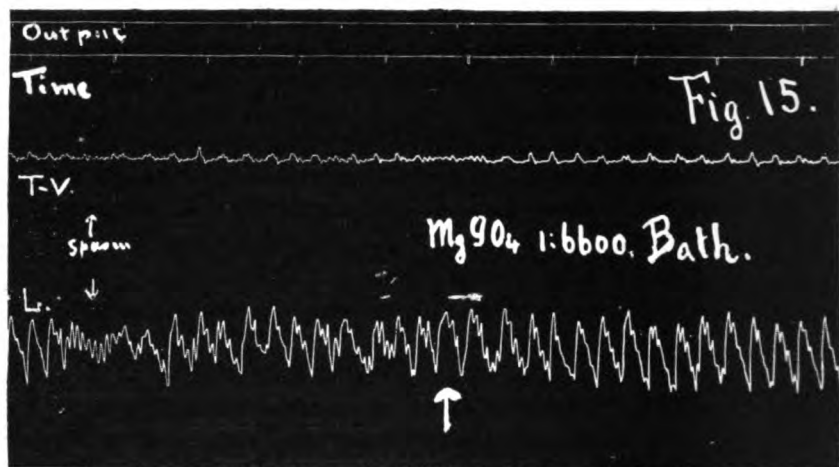



Figure 15 : Intestinal propulsion improved by magnesium solution through relief of intestinal spasm.

Magnesium sulphate, 1:6600, added to bath at second arrow, relieves the intestinal spasm (lowest tracing) and quickens propulsion (uppermost tracing). (Experiment III. 1.2).

to the perfusing solution, or 1:3500 to the bath. A very small change in peristalsis suffices to slow the flow. Figure 15 illustrates the only experiment in which a definite increase of flow resulted from the magnesium (1:6600 to bath) in a « normal » intestine. The tracing and notes show however, that this was due to the relief of an intestinal spasm.

IV. — The Relief of Spasmodic peristalsis by Magnesium : the Antagonism of Magnesium to Barium Spasm.

The observation that magnesium could improve peristalsis and propulsion by relieving accidental spasm of the intestines led to its trial on artificially induced spasm. Experiments with choline, physostimine or pilocarpine did not prove very satisfactory, since the spasms were too capricious in degree and in duration. Barium chloride, added to the bath in the concentration of 1:8500 gave very good results, as shown in figure 16. It produced a spasmodic increase of tone, both of longitudinal and circular muscle, and the intestine relaxed only

imperfectly during the peristaltic pause. This condition, which is very analogous to the « systolic tone » of the heart, diminished the « diastolic excursion » during the peristaltic pause, and prevented the « diastolic filling » of the intestinal loop ; consequently the propulsion was decreased or arrested. This spasm was completely relieved by magnesium chloride, when added to the barium-containing bath in the concentration of 1:1700, as shown in figure 17, which is a direct continuation of figure 16. The tone relaxed; the peristaltic excursions were restored completely or actually somewhat improved over the normal, and the output recovered its original volume. The improvement in the speed of the propulsion and of the relaxation of the peristaltic wave was equally apparent to simple inspection. The effects were studied with varying concentrations, on 13 loops from five animals, with similar results ; except that with the lower concentrations of $MgCl_2$, 1:8000 to 1:4000, the improvement was only partial. With $MgSO_4$, 1:5500 produced complete relaxation, so that the sulphate appears to be over three times as effective as the chloride ; the difference is probably due to the inactivation of a part of the barium by the sulphate ion.

It is tempting to connect this markedly favorable action of the magnesium against intestinal spasm with its clinical use as a laxative in colic, especially in lead colic. However, this involves the assumption that effective quantities of magnesium are absorbed from the intestinal mucosa of man ; and until this is proven the explanation can only be suggestive.

V. — The Effects of Magnesium Sulfate on Peristaltis and Propulsion in the Small Intestines in Situ, in Living Animals.

The experimental analysis has definitely shown that the effects of magnesium on the excised intestine of rabbits, is purely depressant. It now became necessary to determine in how far these phenomena might be modified in living animals ; for it would be conceivable that the magnesium could set up sensory reflexes that might result either in depression or in stimulation of peristalsis. On the other hand, it would also be conceivable that the magnesium might not produce even the strictly local effects, either because the fresh epithelium were too impermeable to absorb the quantities required to affect the intestinal muscle ; or because the absorbed magnesium were too rapidly carried away by the circulation. These questions could only be decided by experiment. For this purpose, the same method was employed as for the perfusion of the excised intestine, but the intestinal segment was left *in situ*, connected with its normal blood supply, the abdomen

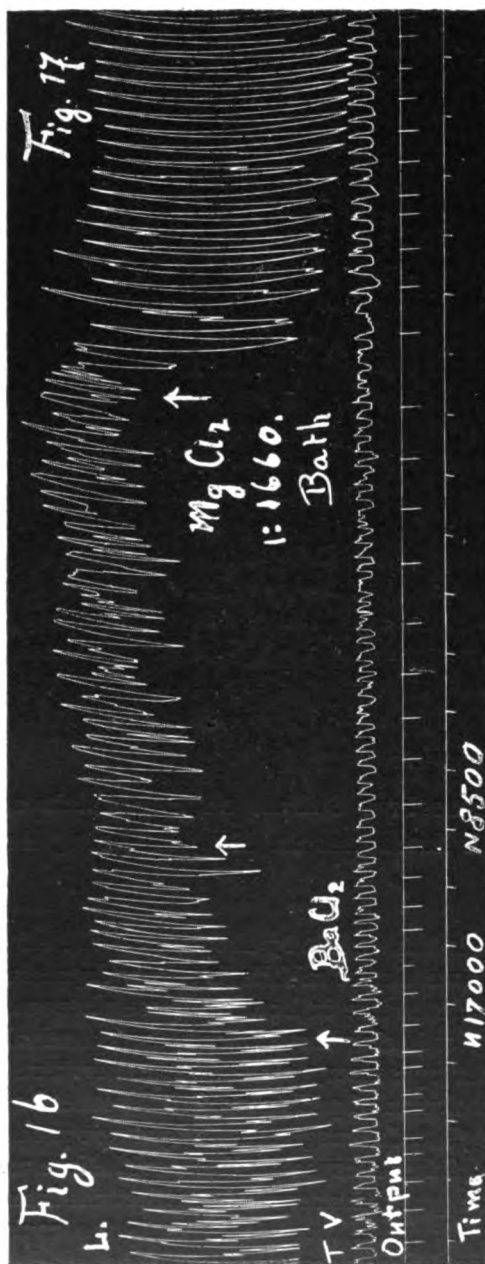



Figure 16 : Barium on intestinal movements and propulsion.

Uppermost tracing : Longitudinal contractions. *Second tracing* : Pressure curve. *Third tracing* : Propulsion. *Fourth tracing* : Time, in minutes.

Barium chloride, 1:17,000, is added to the bath at the first arrow, and increased to 1:8,500 at the second arrow. Note the marked increase of tone, the incomplete relaxations, and the decreased propulsion. (Experiment IV. 1.2).

Figure 17 : Relief of Barium-spasm by magnesium chloride.

The tracing is continuous with Fig. 16. At the arrow, magnesium chloride, 1:1660, was added to the bath. Note the immediate relief of the spasmodic tone, the restoration of the peristaltic excursions, and the increase of the propulsion to the normal output.

of the animal itself being arranged as a saline bath. The procedure was as follows :

Young rabbits, of about 2 Kgm weight, were anesthetized to immobility by a large dose of urethane, 2 Gm per Kg, administered by stomach tube. The animal being tied back down, a 15 cm incision was made through the skin of the abdomen, in the median line. The skin was separated from the underlying fascia and muscles by blunt dissection, for as large an area as convenient. The edges of the skin wound were hooked with pins over an oval brass ring, 15 × 7 cm. This ring was raised by a suitable stand, as far as the skin would stretch, forming a water-tight pouch, with the muscle as its base, the skin as its sides, and the brass ring holding open the top. This pouch was filled with warm saline, and kept at a constant temperature by a continuous small stream of heated saline, flowing into the pouch from a reservoir, and spilling over the sides of the pouch to the table. The temperature was controlled by a thermometer in the pouch.

When this pouch was properly arranged and filled with warm saline, a small median incision, 3 cm long, was made through its floor into the abdomen, and a loop of small intestine with fairly long mesentery was gently pulled up through this opening and up into the pouch. The loop was generally from about the middle or lower third of the small intestines. A segment was isolated between 2 ligatures, placed about 10 cm apart, and into this were tied the cannulae for perfusing the intestinal lumen, just as in fig. 13. The inflow cannula was connected with the two Woulff bottles so that the (warmed) perfusing solutions could be alternated. Great care was taken to preserve a good blood supply, as shown by the color of the intestines. It is important to avoid unnecessary handling of the intestines, and cooling and drying by unnecessary exposure to the air. Even with the most careful technic, peristalsis did not start until some time, 1/2 to 2 hours, after the lumen was filled with the perfusing solution. During this interval the tone of the intestinal muscle remained low, and even pressures of 6 to 8 cm of water failed to provoke peristalsis. It is conceivable that this temporary inhibition is due to « shock » ; but it is perhaps more probably a direct depression of the intestinal muscle by the large dose of urethane ; and the recovery to the washing away of the excess of anesthetic by the continuous lavage of the abdominal pouch. Gradually, however, the peristalses begin ; at first they are liable to spontaneous changes of activity ; but in time they become quite as regular as those of the excised intestines. It is only then that drugs should be applied.

The results of perfusing magnesium sulphate through the lumen were found to be exactly like those in excised intestine, except that considerably higher concentrations are required : whereas the excised intestine was generally distinctly depressed by perfusing its lumen

with mixtures of 1 part of isotonic $MgSO_4$ to 19 parts of LOCKE's liquid, and markedly slowed and generally arrested by dilutions of 1 part of isotonic $MgSO_4$ to 9 parts of LOCKE's solution, in the intestine of the living animal even undiluted isotonic magnesium sulphate had

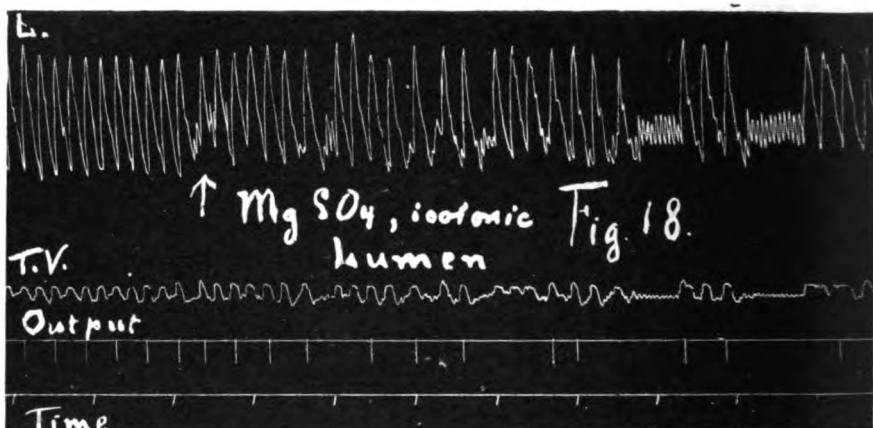



Figure 18 : Magnesium depression in Living Animals.

An intestinal segment of a living animal was connected so as to perfuse its lumen with Locke's solution. *Upper line :* longitudinal contractions ; *second line* : pressure changes ; *third line :* propulsive output ; *lowest line :* time in minutes.

At the arrow, isotonic magnesium sulphate solution was perfused through the lumen. Note the depression of peristalsis and propulsion, exactly as in excised intestine. This was the greatest degree of depression produced in living animal by isotonic magnesium solution. (Experiment VI. 1.6).

comparatively little effect ; the greatest depression was that shown in figure 18 ; in five other loops the depression was slight, about the degree shown in figure 19. With all these the propulsion was also slowed. In two loops the isotonic solution did not produce any depression. It is very clear, therefore, that magnesium does not stimulate the small intestine in living animals, any more than the excised intestine. When it has any effect, this is purely depressant ; but the depression is very slight even with isotonic solution, and does not check effective propulsion. It would not hinder the distensive stimulation that would be provoked by the bulk of the magnesium solution. The depression might be sufficient to aid in the relief of intestinal spasm.

The smaller depressant action of the magnesium in living animals is due to the slower absorption and especially to the more rapid removal of the magnesium by the circulation. Indeed, it is quite conceivable that the action in this case is not local but systemic ; for the intravenous injection of magnesium produces very marked inhibition of peristalsis and slowed propulsion, as shown in figure 20,

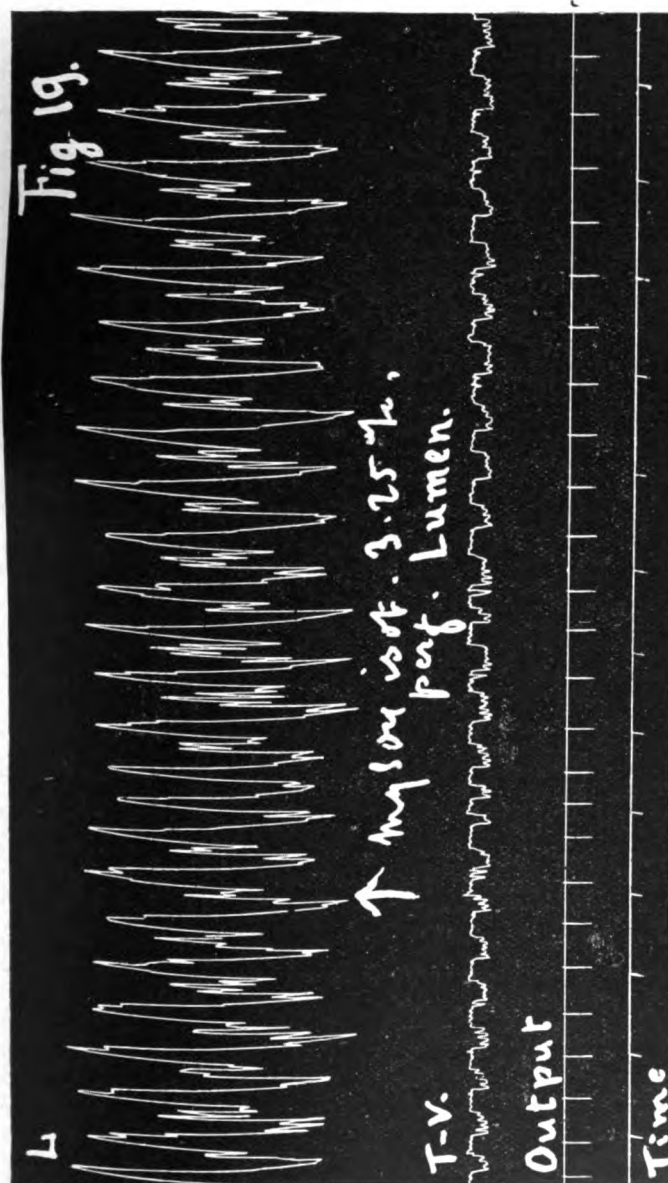



Figure 19 : Ordinary effect of isotonic solution of magnesium sulphate in living animals.

Arrangement as in Figure 18. The magnesium is perfused through the lumen at the arrow. The depression is slight, but distinct. In no case was there any stimulation. (Experiment VIII. 2.1)

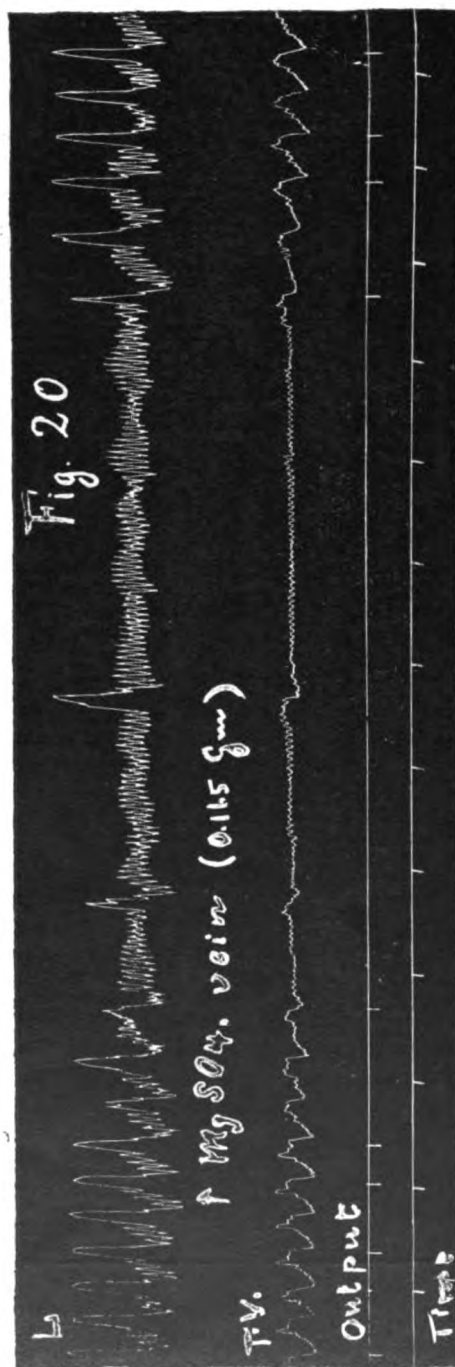



Figure 20 : Intravenous injection of magnesium sulphate in living animals.

Arrangements as in figure 18. At the arrow, 0.165 Gm of magnesium sulphate in 10 cc of water were injected into an earvein. This resulted in marked magnesium eppression, about equivalent to that produced when magnesium sulphate was added to the bath in the concentration of 1:8,000 (Figure 6). (Experiment III, 1.6).

where 0.165 Gm of magnesium sulphate in 10 cc of water were injected into an ear, vein.

DISCUSSION.

The results of these lines of experimentation do not lend support to the conception that any direct or reflex actions of magnesium on the small intestines assist in its cathartic effect. The normal peristalsis is always depressed by magnesium, whether it be applied to the serous surface or to the interior of the intestines ; and the normal propulsive efficiency is always impaired. When the circulation is intact, however, the impairment is insignificant, even when isotonic magnesium sulphate is placed into the intestinal segment. On the other hand, the potent influence of the volume of the intestinal contents on peristalsis is emphasized ; and as the difficult absorbability of the magnesium sulphate would maintain a greater volume of intestinal contents its passage through the small intestine would be accelerated on osmotic and mechanical grounds. The increased volume of intestinal fluid may be the only important element in the normal magnesium catharsis, but it must not be overlooked that the experiments so far have been confined to only one type of intestine, and cannot be quite safely generalized to other types. These problems remain for further investigation.

On the other hand, a certain degree of direct magnesium depression is seen to be useful, for relieving intestinal spasm ; and this may even lead to increased propulsion. This is perhaps an important and hitherto overlooked factor in the use of magnesium sulphate in lead poisoning and other colics.

CONCLUSIONS.

Magnesium sulphate, in concentrations equivalent to those of normal plasma, depresses the tone of the circular muscle and thus slows the peristaltic rhythm and the propulsion of the intestinal contents, in excised and filled segments of the small intestines of rabbits. The longitudinal tone and the pendulum movements undergo a compensatory increase.

Somewhat higher concentrations, for instance 1:3000, abolish peristalsis completely for low distension pressure, although it may be restored by increasing the distending pressure, if the depression is not too great, i. e. a greater distending pressure is necessary to start peristalsis.

The same depressant and paralyzant effects are produced when the magnesium solution is made to flow through the lumen of the

excised intestine. The equivalent effects require a concentration about 6 to 8 times higher than for exterior application.

Conditions of excessive tone of the circular muscle or peristaltic spasm, for instance that produced by barium, may be completely relieved by the magnesium depression, so that the peristalsis and propulsion are restored to normal. This is perhaps an important factor in the use of magnesium sulphate in lead and other colics.

The same depressant phenomena are produced when magnesium sulphate is placed into the small intestine, left *in situ*, with its natural circulation and central nervous connections intact. However the depression is only slight, even with isotonic solution of magnesium sulphate and does not materially interfere with normal peristalsis.

The experiments show definitely that the cathartic action of Magnesium Sulphate does not involve any direct or reflex stimulation of the small intestines, at least with rabbits. If the propulsion rate is increased, under clinical conditions this must be due to other factors: the increased volume of the intestinal contents; stimulation from hypertonic solutions; and possibly the transmission of gastric stimuli.

BIBLIOGRAPHY.

1. RADEMAEKERS, A. AND TORALD SOLLMANN : *Arch. internat. Pharmacodyn.*, 1924, 29,481.

2. MAC CALLUM, J. B. : « On the Mechanism of the Physiological Action of Cathartics ». *Univ. Calif. Publications Physiol.*, 1906.

3. MELTZER, S. J. AND AUER, J. : *Amer. Jour. Physiol.*, 1906, 17,313.

4. TYRODE, M. V. : *Arch. internat. Pharmacodyn.*, 1910, 20:205.

5. DE HEER, J. L. : *ib.*, 1911, 21,321.

6. MELTZER, S. J. : *Arch. Internal Medicine*, 1915, 15,955.

7. TRENDELENBURG, PAUL : *Arch. exp. Path. u. Pharmakol.* 1917, 81,55.

8. HÉDON AND FLEIG : *Arch. internat. de Physiol.* 1905, 3,95.

9. WACKER, L. : *Arch. gesammte Physiol.*, 1917, 168,158 (footnote).

10. BAUR, M. : *Arch. exp. Path. u. Pharmakol.*, 1923, 100,95.

R. UNIVERSITÀ DEGLI STUDÎ DI FIRENZE
ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E TOSSICOLOGIA.
DIRETTO DAL PROF. G. CORONEDI.

SUL SINERGISMO TRA FARMACI ED ORMONI.
Nota I[a]: DIGITALICI E TIROIDE

PER IL

DOTT. PIETRO-MARIA NICCOLINI

Assistente.

Se è vero che dall'antica polifarmacia caduta col tempo in abbandono, anzi in disprezzo, siamo passati all'estremo opposto, cioè al massimo semplicismo nella ricettazione, non è men vero che oggi si tende a battere una via intermedia, che, come suole accadere quasi sempre, raccoglie l'utile del vecchio sistema associando fra loro varie attività terapeutiche, mentre non trascura del nuovo la semplicità, ed una migliore valorizzazione delle più solide nozioni sul potere curativo, e sul meccanismo di azione farmacologica.

Con questo intendimento, io credo, oggi siamo soliti di associare talora due o tre medicamenti dello stesso tipo, con azione genericamente simile, capaci però nel complesso di sviluppare un'azione o più definita, o più energica, o più constante ; in una parola, per qualsiasi ragione, più pregevole. Né lo studio di queste associazioni è stato infecondo, inquantoché, cosa che non era a priori prevedibile, è stato messo in evidenza, che, talora, due medicamenti affini esaltano la loro azione quando agiscono contemporaneamente, in modo che il resultato terapeutico è superiore a quello che ci si attenderebbe dalla somma degli effetti, che avrebbero potuto dare quei farmaci, usati in quelle medesime dosi, ma separatamente. Tali associazioni sono state per questo chiamate sinergiche.

E sul sinergismo si è andata in questi ultimi anni, sia pur con lentezza come richiede la particolarità stessa dell'argomento, accrescendosi discretamente la letteratura ; si sono riscontrate azioni che possono dirsi sinergiche, non solo fra sostanze molto affini farmacologicamente, ma altresì tra farmaci abbastanza distanti, e perfino, sotto qualche rispetto, antagonisti, quali ad esempio la trinitrina e l'adrenalina

(LUISADA) (1). I medicamenti con cui più comunemente si è riscontrato il fenomeno appartengono ai prodotti della vecchia farmacia, sono farmaci che fanno capo ai regni minerale e vegetale, a cui si deve aggiungere, quasi direi in via eccezionale, l'adrenalina. Ma non mi risulta che sia stata esaurientemente studiata la situazione endocrina in rapporto ai fatti sinergici, nei riguardi della terapia, né se sia stato riscontrato il fenomeno del sinergismo fra prodotti opoterapici e farmaci propriamente detti ; sinergismo che non è illecito presupporre, dopo le vaste, sebbene incomplete notizie che possediamo sugli apparati endocrini, sulla loro complessa fisiologia e quindi sulla azione dei prodotti terapeutici che se ne ricavano.

Possono in ultima analisi rientrare in questo gruppo anche molti altri generi di ricerche, come, per citarne qualcuna, quelle di VERNONI (2) sulla differente resistenza alla stricnina in animali in differente grado di efficenza tiroidea, quelli di HUNT e SEIDELL (3) che riguardano pure la influenza della tiroide sulla resistenza di fronte ad altri veleni esogeni, alcuni dei quali — come l'acetonitrile — sono stati assunti al grado di reattivi biologici per scoprire, e sino titolare preparati tiroidei (FÜHNER) (4).

Ricerche che più si avvicinano al nostro indirizzo sono, ad esempio, quelle della scuola del MARAGLIANO, che prendono di mira la funzionalità gastrica od intestinale di fronte ai varî farmaci stimolanti per questi organi, creando artificialmente stati endocrinici, che si allontanano più o meno dalla norma, per passare poi a studiare l'azione dei farmaci stessi in individui a situazione endocrina costituzionalmente o patologicamente alterata (5, 6). Oppure si tratta di esperimenti su organi staccati dall'animale, facendoli venire prima in contatto col prodotto opoterapico, e, raggiunta la reazione evidente a questo stimolo, se ne saggia la risposta al farmaco di cui conoscesi qualitativamente e, per quanto è possibile, anche quantitativamente, il quadro di azione (7).

Questo ultimo metodo sperimentale potrà certamente servire allo studio degli effetti di una successione di somministrazione di sostanze, od all'analisi del loro meccanismo di azione, ma non mi sembra che in alcun modo ci possa dare un indizio di come un organo reagisca ad un farmaco, quando tale organo ha appartenuto ad un individuo con situazione endocrina patologicamente o sperimentalmente modificata, in quanto che, dando qualche diecina di minuti prima un prodotto opoterapico non si può affatto ammettere che, per questo, sia avvenuta una modificazione endocrinica, la quale, a mio parere, non è l'effetto di un momento, di una applicazione pur che sia, ma del continuo sottostare dell'organo alla influenza di quei dati ormoni. Non nego, ben s'intende, l'interesse anche di questo altro studio, ma non mi sembra che possa legittimamente considerarsi a priori, come uno di quelli che possono portare a conclusioni

applicabili direttamente all'animale vivente, e con lo studio sul vivente -- fatte le debite proporzioni -- confrontabile.

Per noi, che in questo Istituto da qualche tempo abbiamo intrapreso una serie di indagini, che vorremmo intese a mettere in evidenza eventuali fenomeni sinergici tra farmaci e funzioni endocrine, non si poteva prestare tale metodo, come prima via di ricerca, perché ci avrebbe allontanato troppo da quello che rappresentano in vivo le secrezioni interne, riducendole da stimoli fisiologici continuati, a stimoli chimici momentanei e transitorî, che daranno sí alcune reazioni biologiche al momento di applicazione, ma che saranno insufficenti a modificare il comportamento generale di un organo di fronte ai varî stimoli. Ci servirà semmai in secondo tempo a corroborare eventuali reperti.

Perciò abbiamo creduto talora opportuno di servirci di metodi di questo genere per formarci un criterio di orientamento, ma abbiamo basato più che altro le nostre indagini studiando via via l'azione fisiologica di farmaci idonei, in animali che avevano subìto o l'estirpazione parziale o totale di qualche apparato endocrino, o che per lungo tempo erano stati sottoposti a cure opoterapiche più o meno intense, ottenendo così una situazione endocrina alterata o per difetto o per eccesso di una categoria di principî attivi, non escludendo per nulla le reciproche influenze interendoglandolari, che la modificazione dei secreti di un gruppo porta a tutte le altre glandole. Se la maggior complicazione delle ricerche ne rendeva più difficile lo studio, era in compenso lecito sperare di poter giungere a conclusioni più ampie e comprensive, che possono più facilmente essere trasportate e controllate nel campo dell'esperimento clinico, cui ogni indagine sperimentale dovrebbe immediatamente o mediatamente tendere.

* * *

Le nostre ricerche hanno preso per primo campo di lavoro, lo studio degli eventuali rapporti che possono intercorrere tra i farmaci digitalici e l'apparato tiroparatiroideo, per ragioni varie, ma sopra a tutto perché l'azione della secrezione interna tiroidea è fra le meglio studiate, ed è altresì largamente illustrata da molteplici lavori l'influenza ed i rapporti che intercedono fra sistema tiroparatiroideo e sistema circolatorio ; debbo aggiungere che non estranea alla nostra decisione di iniziare questo studio dai rapporti tireo-circolatorî è stata la casuale coincidenza, che quando stavamo predisponendo il piano generale del lavoro, capitò alla nostra osservazione clinica tossicologica (nel R. Arcispedale di S. M. Nuova di Firenze) un caso di avvelenamento da strofanto in donna basedowica, in cui ci sembrò dover rilevare una maggiore resistenza dell'organismo al veleno, e al tempo stesso una risposta del cuore da non lasciare dubbio sulla

alta tossicità della dose assunta, sopra tutto per la frequenza molto considerevole, propria della fase tossica inoltrata dei veleni digitalici, allorché avviene la completa paralisi del sistema cardioinibitore; eccone in breve la storia clinica.

Cartella, 1924, n° 52.— Negli antecedenti il padre soffre per vizio cardiaco. La p., donna di 22 anni, ben conformata e nutrita ha sofferto, oltre alle comuni malattie infantili, di tifo e di broncopolmonite influenzale. Presenta un vizio valvolare aortico di insufficenza ed una forma caratteristica sebbene non pronunziatissima di Morbo di FLAJANI-BASEDOW. Le mestruazioni durano oltre una settimana, ed il loro ciclo si compie in meno di venti giorni.

A scopo suicida, a digiuno, verso le due di notte ingerisce gr. 15 di tintura di strofanto, cui è aggiunta una quantità trascurabile di laudano. Viene poco dopo colpita da un dolore gastrico piuttosto vivo, violento squotimento di polso, intenso cardiopalmo, cianosi, lipotimia. toni assai netti e vibrati, polso 138, agitazione nervosa, pupille torpide leggermente midriatiche. Circa due ore dopo la prima visita le pulsazioni sono scese a 100; più tardi 80 al minuto con un polso affatto teso; le urine sono normali. In breve tempo con l'uso di rimedî sedativi si rimette nello stato ordinario di salute.

I rapporti fra tiroide e cuore sono in gran parte noti grazie agli studî di molti cultori di biologia a cominciare da V. CYON (8), nel 1898: non è mia idea percorrere tutto il cammino fatto nell'argomento sulla scorta della latteratura, perché sarebbe una inutile fatica, trovandosi essa riunita e sfruttata con larghezza in lavori relativamente recenti, di cui mi limito a ricordare quelli di CORONEDI (9) e di ALBERTONI (10), nel primo dei quali specialmente trovasi riunita quasi tutta la bibliografia.

Mi basta percorrere e fissare per sommi capi le tappe principali del considerevole progresso raggiunto in tale campo della fisiologia in queste ultime diecine di anni. Secondo v. CYON, OSWALD, BARBÈRA ed altri, gli ormoni tiroidei aumenterebbero la eccitabilità del vago, diminuendo quella del simpatico. A conferma e riprova, tanto la clinica che la ricerca sperimentale, sia nelle sindromi di insufficenza funzionale tiroidea, sia in seguito alla ablazione glandolare, sogliono constatare diminuzione e poi abolizione della eccitabilità del sistema nervoso cardioinibitore e vasodilatatore, con aumento della medesima per l'apparato nervoso antagonista; e ciò o per azione diretta dalla mancanza dei secreti stessi, o indiretta per l'autointossicazione derivante dalla mancata azione della tiroide e dalla mancata influenza di essa sugli altri sistemi endocrini: ma, secondo gli studî di CORONEDI stesso, credesi doversi appoggiare piuttosto al primo che al secondo meccanismo di azione. Inoltre l'ipertiroidismo sperimentale di modico grado aumenta l'eccitabilità del vago, ma le forti dosi la diminuiscono come l'estirpazione della glandola (ALBERTONI).

Stabiliti così in forma più che schematica i capi saldi dell'azione

dell'apparato tiroparatiroideo su quello circolatorio, mi era conveniente indagare in che relazione si trovassero farmaci comuni, ad azione ben nota sull'apparato circolatorio, secondo il grado di funzionalità dell' apparato endocrino in questione. Trascurando anche la osservazione clinico-tossicologica sopra riferita, è noto che i malati di gozzo con ipotiroidismo sono refrattarî di fronte ai veleni del vago, in tali pazienti, la digitale, anche in dosi nauseanti è inattiva tanto sul cuore che sul rene (MINNICH V. in 11).

Quanto alla scelta del materiale, abbiamo cercato di ridurre al minimo tanto la varietà dei soggetti quanto la varietà dei preparati: si sono preferiti i prodotti totali ai singoli, per la maggiore integrità di azione cui dànno luogo, un poco più confrontabile con l'azione della glandola stessa in vivo o della droga in toto; principalmente abbiamo fatto uso di *endotirina* per uso orale ed ipodermico, e di *tiroidina atossica* per via orale, preparati gentilmente e largamente fornitici dall' Istituto Sieroterapico Milanese; inoltre si è pure usato in taluni casi la *iodotirina* della casa Bayer; avremmo pure gradito di prendere in considerazione anche la *tiroxina* di KENDALL, ma non è stato possibile procurarcela. Come preparati digitalici abbiamo fatto uso di fiale di *digifolina* CIBA e di soluzione di *digitalia* largamente inviataci dalla casa GUALDONI di Milano. Come animali, il ratto, la cavia ed il cane hanno servito allo scopo: da tener presente a proposito della cavia, che se essa dà dei discreti resultati, non si presta tuttavia per tutte le prove, perché il suo apparato cardioinibitore non possiede tono; oltre di che è da tener presente, che trattandosi di un erbivoro resiste assai bene, almeno da adulto, alla estirpazione della tiroide, al pari degli ovini (ALBERTONI); ed infine che per la anatomia del sistema tiroparatiroideo, nella ablazione delle tiroidi si rispettano di solito le paratiroidi inferiori, perché assai distanti, ciò che è impossibile nel cane ed in altri animali da esperimento, in cui le paratiroidi sono situate, una al polo superiore, l'altra al margine interno, ambedue immerse nel tessuto parenchimale tiroideo, e quindi è impossibile rispettarle nella estirpazione del corpo tiroide. Altri animali non sono stati presi in considerazione per svariate ragioni; la rana, così comune oggetto di esperienze nei nostri Laboratorî, non è stata adibita a tali ricerche, perché è noto che, almeno da adulta, essa pure è troppo poco sensibile agli ormoni tiroidei (12, 13).

Animali Ipertiroidizzati.

In un primo lotto sono stati assunti in esperimento dei ratti, il cui peso corporeo varia fra 130 e 180 gr.; sono stati suddivisi in quattro sottogruppi a seconda della intensità di tiroidizzazione pra-

ticata per un mese nelle differenti dosi sotto indicate, usando la soluzione glicerica di endotirina per via ipodermica :

1° gruppo :	gr.	0,25	pro die,	gr.	7,—	in toto ;
2° »	»	0,50	»	»	14,50	»
3° »	»	0,75	»	»	21,75	»
4° »	controlli senza trattamento opoterapico.					

Questi animali, se se ne eccettuino alcuni perduti durante il trattamento per cause accidentali, hanno mantenuto il peso, l'appetito e tutte le apparenze della salute normale : fanno eccezione solo alcuni campioni del terzo gruppo, che, verso il termine del trattamento hanno presentato diminuzione di peso e lievemente anche di appetito, senza per questo andare incontro a conseguenze più gravi. La applicazione del preparato digitalico è stata fatta mediante perfusione a traverso le coronarie cardiache, servendoci dell'apparecchio per circolazione artificiale su cuore di piccoli mammiferi, ideato da SPADOLINI (14) modificando quello di LOCKE. La digifolina usata in tutte le esperienze di questo tipo viene valutata agli effetti del dosaggio per la quantità di droga cui corrisponde. Gli animali vengono uccisi mediante un colpo inferto alla nuca, si apre subito il torace, e con le ordinarie attenzioni, non disgiunte da una certa rapidità, si estrae il cuore tagliandone il peduncolo vasale in corrispondenza della piega di riflessione del pericardio viscerale in parietale ; si risciacqua brevemente in RINGER-LOCKE (*) tiepido ed ossigenato, si applica l'aorta alla cannula dell'apparecchio aprendo subito il rubinetto par iniziare al più presto la circolazione, ed infine si collega la punta del cuore con la comune leva scrivente. Il liquido che circola è RINGER-LOCKE ossigenato, mantenuto alla temperatura di 39° circa ; la pressione è di cm. 50 di acqua, di poco inferiore a quella che trovasi nell'aorta di questi animali. Iniziata la circolazione, il cuore dopo poco riprende a pulsare, regolarizzandosi in breve. Allora viene immesso nel torrente circolatorio il preparato digitalico nelle modalità che verranno appresso descritte.

Controlli. — All'atto dell'immissione in circolo di gr. 0,001 di digitale si ottiene, n circa un minuto primo, un aumento di ampiezza delle pulsazioni che raggiungono quasi una escursione doppia delle normali, ma ben presto si riabbassano, raggiungendo in circa due minuti un minimo di un quarto del normale ; intanto è inter-

---

(*) La soluzione di RINGER-LOCKE usata, ha questa composizione :

Cloruro di sodio	9.—
Cloruro di potassio . . .	0.42
Cloruro di calcio	0.24
Carbonato di sodio . . .	0.15
Glucosio	1.—
Acqua distillata	1000.—

venuta una certa rarefazione : dopo qualche minuto dacché circola liquido nutritivo esente da digitale la ampiezza, ed in parte la frequenza, riprendono alquanto, di modo che dieci minuti circa dall'inizio possiamo considerare il tracciato come quasi normale.

Successivamente si iniettano in varie riprese altri 9 mgr. di droga, coi quali si determina la morte del cuore. Da notare peraltro che l'evidenza, prontezza e intensità di reazione rilevata con la prima somministrazione non è così chiara per le applicazioni successive, anche se in esse volta per volta si è fatto uso di dosi più forti.

In altri animali viene saggiata come prima applicazione la dose corrispondente a gr. 0,002 di digitale, e, mentre siamo giunti in alcuni casi ad una reazione simile a quella descritta nel caso precedente, e che ha permesso numerose altre somministrazioni, in altri la reazione è stata evidentissima, ed il quadro si è chiuso in breve senza che occorresse altra aggiunta di sostanza onde pervenire all'arresto finale (Fig. 1). Da questo gruppo di osservazioni, di cui

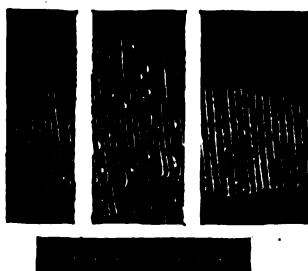



Fig. 1.

Cuore isolato di ratto sotto l'azione di gr. 0.002 di digitale (digifolina) : fasi successive d'azione. Il tempo segna i secondi.

presentiamo uno dei più caratteristici tracciati, dato, il comportamento descritto abbiamo ritenuto lecito la illazione essere questa dose da considerarsi come soglia limite — nel ratto normale della media taglia sopra indicata — fra la dose terapeutica e la tossica.

1° *Gruppo.* — Una parte di questi animali, come i controlli, sono stati sottoposti ad una prima somministrazione di gr. 0,001 di digitale, ma in questi non si riesce, entro i primi cinque minuti (tempo più che sufficiente per determinare nei controlli tutto il quadro digitalico) a constatare modificazioni di sorta. Somministrazioni successive fino alla dose globale di gr. 0,01 dànno al più una lieve diminuzione di ampiezza, fugace, e forse una dubbia rarefazione. Il cuore prosegue a pulsare a lungo.

Nell'altra metà degli animali di questo gruppo si somministra come prima dose gr. 0,002 di digitale, che, in genere, entro cinque minuti produce la morte, senza altre manifestazioni all'infuori di una

progressiva diminuzione di ampiezza delle pulsazioni cardiache. Uno dei numerosi tracciati può bastare alla interessante documentazione (Fig. 2).

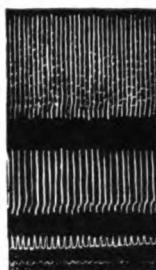



Fig. 2.

Fasi successive (dall'alto in basso) della azione digitalica in cuore di ratto modicamente ipertiroidizzato.

2° *Gruppo*. — Il miocardio degli animali appartenenti a questa seconda categoria si mostra già di per sé meno resistente di quello dei ratti normali ed anche dei precedenti ; non sempre si riesce ad ottenere come cardiogramma normale un valido tracciato, ché del resto, anche nei migliori per ampiezza, si notano sempre considerevoli e persistenti fatti di irregolarità e di ineguaglianze. La digitale nelle dosi già ricordate produce rarefazione delle pulsazioni e le regolarizza alquanto, ma l'ampiezza va continuamente riducendosi per tutta la durata delle osservazioni. Nei cuori meglio funzionanti, sebbene con le particolarità di cui sopra, è stato possibile anche somministrare in tutto un centigrammo di digitale prima di arrivare all'arresto completo. Riteniamo superfluo riprodurre grafiche.

3° *Gruppo*. — Da questi animali, che hanno ricevuto la maggior quantità di preparato tiroideo, sebbene fossero scelti anche i più robusti e più grossi degli altri, è stato impossibile ottenere un tracciato presentabile ; a parità di condizioni grafiche questi tracciati non superano un millimetro di escursione, ed inoltre il cuore sopravvive pochissimo. Abbiamo potuto constatare che la digitale ne accelera ancor più il decorso e la morte, senza nessuna manifestazione propria di questa droga. Si ritiene sopra tutto colpito il miocardio, perché si lascia sfiancare dalla pressione di 50 cm. d acqua, pressione regolarmente tollerata, e ben tollerata, dai cuori dei controlli e degli animali del primo gruppo. Da osservare incidentalmente, che con questa nterpretazione concorda anche la constatazione del danno prodotto dalla digitale ; è nozione clinico-terapeutica corrente che la digitale è controindicata negli stati di miocardite avanzata, non solo per le maggiori resistenze che induce per le modificazioni del circolo (che nelle nostre esperienze è fuori causa) ma ancora proprio per la azione cardiaca.

In un secondo lotto sono state assunte in esperienza delle cavie, del peso variabile fra i 400 e i 500 gr.; i quattro gruppi sono così ripartiti rispetto alla somministrazione tiroidea, eseguita tanto qui che nei ratti mediante iniezioni sottocutanee di soluzione idroglicerica di endotirina :

1° gruppo : controlli ;
2° » animali che hanno ricevuto il preparato in ragione di gr. 0,5 pro dosi, gr. 22 in due mesi circa ;
3° » gr. 1 pro dosi, gr. 42 in due mesi ;
4° » » 2 » » » 84 » »

La dose singola delle somministrazioni digitaliche corrisponde a gr. 0,0025 di droga.

Allo scopo di abbreviare l'esposizione, senza stare a riportare i protocolli sperimentali, diremo che il modo di reagire del cuore degli *animali controllo* di fronte alla digitale si rassomiglia in tutto a quello osservato nei ratti, ed è, come quello, caratterizzato da un aumento di ampiezza piuttosto transitorio, che raggiunge circa una volta e mezza il normale, e poi lentamente degrada.

Negli animali appartenenti al *primo gruppo* i fatti si verificano secondo lo stesso tipo : se una differenza vi dovessimo vedere, diremmo esser questi tracciati leggermente più ampî e di durata maggiore che non i controlli. Da notare, come del resto anche per i ratti, che per le instillazioni digitaliche successive alla prima la risposta è meno netta che da principio.

Negli animali del *secondo* e *terzo gruppo* i resultati della prima somministrazione sono così scarsi da sfuggire ad un primo sguardo superficiale, una ulteriore somministrazione dà resultati appena un poco più evidenti.

In un terzo lotto i soggetti da esperimento sono stati dei cani, che possiamo suddividere in due gruppi : adulti e giovani. Su di essi le esperienze sono state condotte in modo del tutto diverso dalle precedenti, essendo stata considerata come esponente della reazione sopra tutto la frequenza del polso, dato che in questi animali esiste un sistema cardioinibitore con un tono molto più elevato che non sia in altri animali sopra tutto erbivori, quali la cavia, la capra ed anche il coniglio.

Il periodo di osservazione è stato suddiviso in decadi ; per due o tre giorni al principio di ogni decade veniva conteggiata la media delle pulsazioni normali e la media del peso corporeo ; inoltre nei medesimi giorni si valutavano le modificazioni di frequenza indotte dalla somministrazione ipodermica di dosi costanti di digitale, facendo poi la media della frequenza delle pulsazioni al minuto fra i 5 e i 15 minuti, fra i 30 e i 45, e fra un' ora ed una e mezza. Per tutta

la durata dei dieci giorni gli animali ricevevano insieme col cibo il preparato tiroideo polverizzato, che è stato per alcuni l'endotirina, per altri la tiroidina atossica ambedue preparati dell'Istituto Sieroterapico Milanese, e per altri ancora parte l'una, parte l'altra, parte l'endotirina in soluzione glicerica come nei topi e nelle cavie. Come preparato digitalico oltre alla digifolina è stata anche usata la digitalia di cui un cmc. dovrebbe equivalere a mgr. 0,4 di digitossina. Non abbiamo bisogno di aggiungere che si cercava di prendere la frequenza del polso sempre nelle medesime condizioni fisiologiche, a digiuno, facendo preventivamente restare i cani, per il possibile, in riposo.

1° *Gruppo.* — A questo appartengono due cagne adulte : in esse, dopo un periodo di osservazione senza trattamento opoterapico alcuno, per potere stabilire quale fosse la entità della risposta al preparato digitalico in quelle determinate dosi in condizioni normali, è stata eseguita la somministrazione tiroidea a cominciare da una pastiglia (= gr. 0,3 di tiroide fresca) crescendo progressivamente di una ogni dieci giorni per lo spazio di due mesi ; nel terzo mese sono state somministrate 8, 10, 12, 18 pastiglie giornaliere, ma quest'ultimo quantitativo è stato spesso rifiutato dagli animali, che con tali dosi perdevano sopra tutto appetito e cominciavano a scemare di peso : fa apparentemente eccezione su questo punto il secondo animale, ma solo in apparenza, perché, proprio al termine delle osservazioni, partoriva tre piccoli normali e sani ; gravidanza che all'inizio delle ricerche era ignorata da noi, ma che — sia detto per incidens — non subì dal trattamento opoterapico stesso alcun danno. Come risulta dagli uniti diagrammi la tiroidizzazione tanto con tiroidina atossica quanto con endotirina non ha modificato in modo molto evidente la frequenza del polso, che si è mantenuta sui 120 al minuto in media, presentando tuttavia maggiori oscillazioni nel secondo soggetto ; non siamo in grado di dire se ciò sia da imputarsi alla varietà del preparato, od al fatto che l'animale era gravido, od a cause diverse dalle ricordate. Passando a quello che più ci interessa, la reazione alla digitale nelle varie decadi di trattamento tiroideo (tratti sottili del diagramma), è innanzi tutto da osservare che la prima media fra 5 e 15 minuti dall'iniezione digitalica dà per la digitalia un lieve aumento di frequenza, che quando la tiroidizzazione si intensifica non si osserva più, mentre tende a ricomparire nell'ultima decade, in cui si sospende il trattamento tiroideo : la digifolina non ci ha fatto osservare questo fenomeno che una sola volta. Più importante é il comportamento successivo della frequenza e indirettamente della attività del vago : nel primo animale (trattamento : Tiroidina atossica — Digitalia), salvo piccole oscillazioni la bradicardia digitalica si fa sempre più evidente con l'intensificarsi della tiroidizzazione, mentre nel secondo animale (trattamento : Endotirina-Diig-

folina) il massimo di bradicardia si ha a metà del trattamento, poi sembra che il vago – forse raggiungendosi con questo preparato più presto i limiti di tolleranza – divenga sempre meno eccitabile. Il fatto è messo bene in evidenza dai due diagrammi comparativi posti a destra nelle tavole (Fig. 3 e 4).

Fig. 3. — Cagna adulta.

Fig. 4. — Cagna gravida

Spiegazione dei Diagrammi.

Linea grossa : Modificazioni della media della frequenza cardiaca in seguito a progressivo aumento della tiroidizzazione: le ordinate segnano le decadi di esperienza; il segno ⊙ rappresenta le medie di almeno due giorni al termine di ogni decade, col trattamento sopra segnato.

Linea sottili : Modificazioni della media della frequenza cardiaca in seguito alla iniezione di 1 cc di preparato digitalico praticata negli ultimi 10 gr. di ogni decade : è segnata solo la media fra 5 e 15 minuti, fra 30 e 45 e fra 60 e 90.

Linea tratteggiata : Media del peso corporeo in ogni decade di trattamento.

Il *diagramma comparativo* esprime la massima rarefazione che si ottiene con 1 cc. di preparato digitalico, nelle diverse fasi di tiroidizzazione (parte tratteggiata), nel normale e nell' ultima decade senza trattamento tiroideo (parte senza segni).

2° *Gruppo.* — In questo sono riunite le esperienze eseguite su animali (cani) giovani. Sebbene dalle esperienze di ALBERTONI e di altri fosse nota una notevole influenza dell'età in relazione alla importanza tiroidea specialmente negli ovini, in cui mentre i soggetti adulti possono essere stiroidati senza pericolo, ciò non può farsi nei giovani agnelli senza vedere comparire un quadro morboso tiroparatireoprivo più o meno acuto, conoscendosi d'altro lato che nel cane la funzione vasomotoria è ancora incompletamente sviluppata a due mesi circa, e nei primi giorni manca affatto (15), ripensando ai rapporti fra questi varî organi e le loro rispettive funzioni, poco era da sperare da questo secondo gruppo di esperimenti : tuttavia, avendone la possibilità, ho creduto di aggiungere alle altre anche queste tre esperienze eseguite in tre fratelli a cominciare dal terzo mese di vita, non essendo stato possibile prima prendere con sffiuciente esattezza il numero delle pulsazioni. A cinque mesi si è iniziato il trattamento tiroideo, parte per la via orale, parte par la ipodermica coi soliti preparati. In questi, anche le dosi più alte non hanno dato al più che una sospensione dell'accrescimento del peso corporeo, mai o quasi mai diminuzione; l'appetito è conservato. La frequenza del polso nel primo periodo di osservazione è andata diminuendo in rapporto col crescere della età, poi si sono verificate le oscillezioni consuete, senza netto carattere ; solo in uno di questi animali, col crescere della dose di tiroide si è avuta una tachicardia evidente ; gli altri due nelle stesse condizioni non la hanno presentata.

Quanto alla reazione di fronte al preparato digitalico i resultati sono stati meno chiari che nel gruppo dei cani adulti : si è avuto spesso ed irregolarmente una certa tachicardia talora immediata dopo l'iniezione, talora più tardiva, indipendente dalla qualità del preparato usato, e, sembra, anche dallo stato di tiroidizzazione più o meno avanzata ; insomma senza alcun indizio che ci permettesse di collegare questa constatazione di fatto con qualcuna delle condizioni di esperimento, coslcché siamo propensi a considerarli piuttosto come fatti legati alla più facile emotività, propria di tutti gli animali molto giovani, che ad altra ragione. Del resto anche la bradicardia propria alla azione della digitale si è osservata con tali irregolarità, da non poterla in alcun modo considerare in rapporto alla stato di funzionalità del vago, modificato dalla tiroidizzazione. In complesso i cani giovani hanno tollerato molto meglio degli adulti il trattamento, ma hanno anche corrisposto meno rispetto alla prova digitalica, ed indirettamente anche rispetto allo stato di tiroidizzazione, ciò che del resto avevamo già preveduto

In questi stessi animali al termine del periodo sperimentale abbiamo voluto esaminare anche più direttamente la eccitabilità

del vago. Fatta la preparazione della carotide per la registrazione della pressione, isolato il nervo vago al collo e la vena giugulare esterna, abbiamo riprodotto la grafica della pressione normale. Si è poi stimolato detto nervo con l'indotto di un apparecchio di Du Bois-Reymond, animato da 4 elementi Leclanché; la distanza fra i rocchetti è di mm. 100, con la quale si ha una intensità che a cose normali è più che sufficiente a produrre un evidentissimo abbassamento di pressione. Invece nei nostri giovani animali l'ipotensione non ha superato in media i 10 mm. Hg. anche per una durata di stimolo di 10 minuti secondi. Allora per la giugulare sono stati introdotti in circolo cc. 2 di digifolina in un caso, di strofaden in un altro: l'ipertensione cui hanno dato luogo è stata fra i 30 ed i 40 mm. Hg.; ripetuta allora la stimolazione del vago nelle condizioni di cui sopra, si è avuto un abbassamento di 40-50 mm. Hg., sempre inferiore alla ipotensione che si suole ottenere in animali normali in simili condizioni, ma tuttavia alquanto superiore a quella ottenuta prima della somministrazione digitalica; anche l'ipertensione da stimolo sensitivo è ridotta al minimo. Le esperienze eseguite sono concordi, e per quanto riguarda la eccitabilità del vago in animali giovani si accordano anche con la letteratura. Sono stati trattenuti per l'esame istologico il midollo allungato ed il miocardio di questi animali; nel caso che dei reperti interessanti vi si potessero ritrovare verranno separatamente comunicati.

Animali Stiroidati.

Nell'intento di poter fare una riprova a conferma delle precedenti ricerche, abbiamo voluto esaminare il comportamento di fronte ai digitalici in animali che si trovassero in condizioni — almeno apparentemente — opposte ai precedenti, dal punto di vista endocrino; da osservare peraltro che l'ablazione dell'organo non ammette gradi, la somministrazione di estratti del medesimo li permette; questa non introduce solo il principio attivo, ma insieme con esso altre sostanze di diversa natura, di ignota azione, quella non toglie che i principî glandolari; che la tiroidectomia — per parlare solo di questa — sposta tutto l'equilibrio endocrino, ciò che verosimilmente non giunge a fare in senso contrario la tiroidizzazione; perciò abbiamo detto che la tiroidectomia è solo apparentemente la condizione opposta alla tiroidizzazione. Comunque non mancava l'interesse anche per quest'altro genere di ricerche, le quali, accettate con la dovuta ponderazione, potevano anche servire di conferma o di ampliamento delle conclusioni possibili a ritrarsi dalla precedente serie di ricerche.

Il soggetto prescelto in questo caso è stata la cavia; per essa era di vantaggio il potersi mantenere assai bene in salute, con discreta sopravvivenza, anche per lungo tempo dopo l'operazione, ciò

che sarebbe stato impossibile per il cane senza speciali provvedimenti operativi, o senza speciali preventive preparazioni degli animali (CORONEDI) che complicano le esperienze. La tiroidectomia si è praticata talvolta con uretano-narcosi, talaltra senza narcosi alcuna ; è stata eseguita con le cautele di asepsi comuni e si è confermata istologicamente la reale ablazione della glandola. Ordinariamente in seconda giornata gli animali, specie se già adulti, erano quasi completamente rimessi : dipoi conservavano l'appetito per lungo tempo invariato, aumentavano ancora di peso, insomma avevano una apparenza molto simile ad animali normali.

Trascorsi differenti periodi di tempo dall'atto operatorio, gli animali venivano sacrificati, ed il cuore, isolato, subiva la circolazione artificiale, con la aggiunta a momento opportuno di dosi frazionate di digifolina. Naturalmente venivano eseguite prove analoghe anche con cavie integre per controllo, sotto ogni altro aspetto comparabili.

Gli animali controllo reagiscono alla prima somministrazione digitalica pari a mgr. 1 di digitale (foglie) come di consueto, aumentando considerevolmente la ampiezza in modo peraltro transitorio, come già vedemmo in analoghe ricerche per la prima parte del lavoro.

Dopo cinque giorni dalla ablazione tiroidea la sensibilità del cuore alla digitale può considerarsi normale ; la risposta in ampiezza è pronta ed evidente. In settima giornata abbiamo notato una risposta più energica rispetto all'ampiezza, oltre di che di tanto in tanto un enorme aumento di frequenza con aritmie e ineguaglianze, che dà quasi l'impressione di un delirium cordis, ci fa pensare che il vago, e per esso le sue terminazioni intracardiache siano più facilmente paralizzabili da parte della digitale (azione acuta della tiroidectomia?). In decima giornata il cuore risente ancora bene la somministrazione digitalica, e vi resiste a lungo : da notare che tanto prima che dopo l'uso del cardiotonico questi cuori si contraggono con molta irregolarità di ampiezza. Dopo quindici, venti e venticinque giorni dall'operazione, la risposta alla digitale, salvo piccole sfumature inevitabili nelle esperienze in vivo, il cuore si comporta come nei controlli, ciò che denoterebbe, che in questi animali dopo un primo risentimento, che si verifica fra la quinta e la decima giornata, si ristabiliscono dei compensi. L'esame istologico del miocardio di alcuni di questi animali, al più ha mostrato qualche fatto di rigonfiamento torbido ; verosimilmente ciò devesi imputare piuttosto alla subìta circolazione artificiale, che non a lesione da mancata tiroide.

Osservati così a sé questi ultimi esperimenti non sembra si accordino con quelli della serie precedente ; pur tuttavia ci paiono per due ragioni abbastanza interpretabili : in primo luogo crediamo di avere sufficentemente illustrato la inesattezza di considerare la

tiroidectomia come l'opposto della tiroidizzazione, ed in secondo luogo nulla vieta di pensare, che per la mancanza dell'organo che principalmente ha l'ufficio di mantenere a livello fisiologico il tono del sistema cardioinibitore, il cuore sia in grado di risentire maggiormente dell'azione di un cardiotonico che in modo non secondario stimola anche direttamente la muscolatura cardiaca, quale appunto è la digitale.

Associazione Tiroide-Digitale.

Le constatazioni emergenti dalla prima parte di queste esperienze, se non incoraggiavano molto le previsioni teoriche, derivanti dalle cognizioni dei rapporti cardio-tiroidei, pur tuttavia deponevano con un certo favore relativamente alla intensificazione della azione dei cardiotonici digitalici quando venissero associati a preparti opoterapici tiroidei. Perciò, in ultimo, a complemento di tali ricerche abbiamo voluto fare qualche saggio relativo alla associazione in questione.

Animale di scelta è stato il ratto, prova di valutazione la circolazione artificiale col solito metodo a traverso le coronarie del cuore isolato, materiale di prova la iodotirina Bayer, e la digifolina Ciba; avremmo desiderato di provare anche la tiroxina di Kendall, ma ci è stato impossibile procurarcela. Abbiamo previamente saggiato il comportamento del cuore in queste condizioni di fronte alla soluzione 1 % di iodotirina, immettendone nel liquido circolante 2/10 di cc. per volta: si ottiene così una immediata diminuzione di ampiezza, che poi riprende alquanto, senza peraltro ritornare alla norma; si ha pure una rarefazione progressiva che termina in lunghe pause, interrotte da contrazioni molto ampie, ma distanziate fra loro: di tanto in tanto riprende un periodo di maggior frequenza che si alterna con nuove e lunghe pause. L'azione della digitale è nota. Allora abbiamo preparato e saggiato varie miscele delle due soluzioni, fra le quali ci siamo fermati a queste tre:

Iodotirina sol. 1 %	cc. 0,9 +	Digifolina	cc. 0,1	pari a	digitale	fogl. gr.	0,01
»	» 0,8 +	»	» 0,2	»	»	»	0,02
»	» 0,7 +	»	» 0,3	»	»	»	0,03

Le modificazioni che il tracciato subisce per l'immissione in circolo di 2/10 di cc. di tali miscele per volta, possono così riassumersi; per la prima miscela, appena circola il liquido medicato, si ha una diminuzione di ampiezza, che poi risale lievemente, la diminuzione di frequenza è scarsa; ulteriori somministrazioni fanno sopra tutto diminuire progressivamente l'ampiezza. Concludendo

in queste proporzioni la azione della iodotirina domina quella della digitale.

Per la seconda miscela può ripetersi quanto sopra, solo la rarefazione è un poco più spiccata, ma la ampiezza va degradando assai presto. Anche qui dunque la azione digitalica non risulta evidente. Quanto a la terza miscela, dopo la immediata diminuzione di ampiezza, si ha una evidente ripresa per aumento della medesima, e più tardi insistendo con qualche altra somministrazione si ottiene una rarefazione considerevole, accompagnata da aumento di ampiezza che in breve supera il normale, e tale si mantiene per un certo tempo. Le presenti deduzioni sono basate su quindici esperimenti.

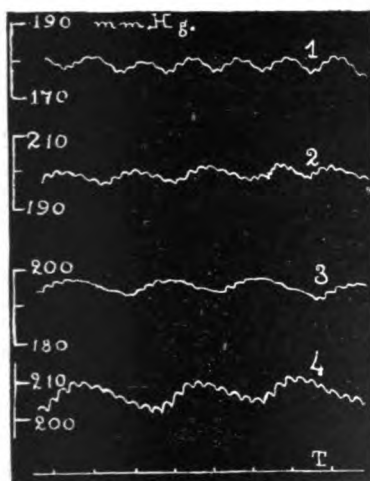
Così come le cose sono esposte non possiamo dire di avere ottenuto dei resultati di grande interesse, pur tuttavia non sarà inopportuna qualche considerazione che permetterà di accrescerne alquanto il valore. Nel metodo usato per questa ultima serie di esperimenti, trattandosi di organi isolati è chiaro che viene esclusa ogni influenza centrale, ed infatti per esempio la digitale non dà la caratteristica rarefazione, altro che per dosi fortissime, tossiche, mentre nell'organo integro e connesso con i suoi centri, è noto che la prima manifestazione terapeutica digitalica è proprio la bradicardia, appunto, perchê almeno in massima parte questa azione ha un meccanismo centrale. Non era quindi illogico pensare, che trasportando l'esperimento con la precedente associazione nell'animale vivente ed integro, si potesse ottenere per la somma delle due azioni una rarefazione molto più considerevole ed una ampiezza maggiore in confronto a quella data dalla digitale da sola, anche in dosi proporzionalmente più alte, appunto perché la digitale agisce stimolando proprio quel sistema, che gli ormoni tiroidei, secondo le vedute di v. CYON e successori, mettono in uno stato di maggiore eccitabilità.

A tale scopo, abbiamo fatto una prova sperimentale in un cane, valutando mediante la registrazione della pressione, le modificazioni della frequenza cardiaca, e, per quanto si può con questo metodo, anche la ampiezza delle singole pulsazioni. Riproduciamo i dati numerici e la grafica perché ci sembra che confortino le nostre previsioni, senza peraltro pretendere di dare a questi valore probativo, richiedendosi allo scopo più larga conferma :

	Pressione carotidea in mm. Hg.	Frequenza cardiaca al m' n°	Ampiezza media del tracciato del polso in mm.
Normale	178	240	2,—
Dopo iniezione endogiugulare di Digifolina sol. 10 % cmc. 1,5 + sol. fisiol. cmc. 3,5 .	198	228	2,5
Dopo iniez. endoven. di Iodotirina sol. 1 % cmc. 5 . . .	195	210	1,5
Dopo iniez. endoven. della miscela: Digifolina cmc. 1,5 + Iodotirina cmc. 3,5 delle precedenti soluzioni	204	208	3,5

e riferendoci per maggior chiarezza ai dati normali considerati con valore fatto eguale a 100 si ha:

Col preparato digitalico: la frequenza diminuisce del 5 %, l'ampiezza cresce del 25 %;
Col preparato tiroideo: la frequenza diminuisce del 12,5 %, l'ampiezza diminuisce del 25 %;
Con l'associazione in proporzione 3 : 7 :
la frequenza diminuisce del 13,4 %, l'ampiezza cresce del 75 %.

Per complemento di questo dati mi pare utile l'accludere i tracciati relativi (Fig. 5).

1. — Tracciato normale della pressione carotidea.

2. — Lieve aumento della ampiezza e diminuzione della frequenza delle pulsazioni cardiache in seguito alla digitale.

3. — Diminuzione di ampiezza delle medesime e della loro frequenza in seguito alla somministrazione endovenosa di iodotirina.

4. — Dimostra l'effetto sinergicos, opra tutto sulla ampiezza, della associazione digifolina + iodotirina nelle dosi singole usate sopra; nella proporzione reciproca 3:7.

T. — Il tempo segna i minuti secondi.

Fig. 5.

Concludendo, possiamo dire che la associazione sperimentata, se ha un valore scarso come associazione sinergica di fronte al carattere « rarefazione del polso », ne ha uno certamente più spiccato ed evidente di fronte al carattere « aumento di ampiezza del polso ».

CONCLUSIONI.

Dallo studio complessivo della letteratura, e dall'esame dei nostri protocolli sperimentali, perveniamo a esporre questi resultati :

1° *Gli animali intensamente ipertiroidizzati sono insensibili ai digitalici ;*

2° *Quando l'ipertiroidismo è di modico grado, la sensibilità ai digitalici è lievemente diminuita ;*

3° *Con un lieve ipertiroidismo si può accrescere transitoriamente la sensibilità di fronte a tali farmaci ;*

4° *La ablazione tiroidea, almeno nella cavia, accresce la sensibilità alla digitale, ma dopo un certo tempo, forse per adattamento, essa ritorna alla norma ;*

5° *La associazione iodotirina-digifolina, la sola che per ora abbiamo potuto sperimentare, ha dimostrato che i due farmaci in opportune condizioni presentano sinergismo di azione, che nell' animale integro si manifesta sopra a tutto a carico della ampiezza delle pulsazioni cardiache.*

BIBLIOGRAFIA.

1. LUISADA. : *Gazz. degli Osp. e delle Clin.*, 1924, n° 13.

2. VERNONI : *Rend. Adunanza Accad. Med.-Fis. Fiorentina*, 15 giugno 1923, in *Lo Sperimentale*, 1923, vol. 77.

3. HUNT E SEIDELL : *Hygienic Laboratory Bull.*, 47, Washington, 1909 (V. in 2 e in 4).

4. FÜHNER : *Nachweiss und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege*, Urban & Schwarzemberg, Berlin-Wien, 1911.

5. GHEDINI, OLLINO e DURAND : *Comptes rendu de la Soc. de Biol.*, 1914.

6. DURAND : *Arch. di Farmac. sper. e Sc. aff.*, 1921, pag. 135.

7. DURAND : *Arch. di Farmac. sper. e Sc. aff.*, 1921, pag. 177.

8. V. CYON : *Pflüger's Arch.*, 1898, vol. 70 (V. in 9).

9. CORONEDI : *Arch. internat. de Pharm. et de Thér.*, 1913, vol. 23.

10. ALBERTONI : *Mem. della R. Accad. d. Scienze dell' Ist. di Bologna*, Serie VII, t. 3, 1915-16.

11. MINNICH : *Das Kropfhertz und die Beziehungen der Schilddrüsenerkrankungen zu dem Kreislaufapparat*, Deuticke, Leipzig-Wien, 1904 (V. in 9).

12. RABBENO : *Arch. di Fisiol.*, 1924, vol. 22.

13. GAYDA : *Arch. di fisiol.*, 1922, vol. 20.

14. SPADOLINI : *Arch. di fisiol.*, 1916, vol. 14.

15. ALBERTONI : *Arch. delle Sc. Biol.*, 1920, vol. 1.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA SPERIMENTALE E DI TERAPIA DELLA R. U.
DI MESSINA.
DIRETTORE : G. VINCI.

SULL'IMPORTANZA DELLA REAZIONE DELLA STROFANTINA, PRATICATA FACENDO AGIRE L'ACIDO SOLFORICO SUL SEME DI STROFANTO CON UN NUOVO PROCEDIMENTO, E SULLA CONSERVAZIONE DEI SEMI DI STROFANTO

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

> Chi vuol possedere alcuna parte di scienza deve saper dubitare, giacchè la cognizione vera non è che la soluzione del dubbio.
>
> ARISTOTILE. Libro III. Metafisica.

Introduzione.

Dopo che BALDONI (1) richiamò l'attenzione degli studiosi sul fatto che i semi di strofanto col tempo perdevano la brillante reazione verde smeraldo che danno quando vengano trattati con H^2SO^4, una piccola letteratura si è raccolta sull'argomento. L'attenzione prestata dagli studiosi a questo problema, indica l'importanza che ha questa reazione dal punto di vista scientifico e pratico.

Lo strofanto è una droga di uso molto diffuso e comune ed è preziosissima, sia da sola che alternata colla digitale, nelle malattie cardiache di lunga durata. Data la sua importanza è necessario che abbia quella determinata azione terapeutica, altrimenti si può restare delusi per debole o mancata efficacia o preoccupati per una azione troppo energica.

Per ovviare a questi inconvenienti ad avere un farmaco ad azione costante, le farmacopee, tra le tante varietà di specie di strofanto, prescrivono a preferenza quelli provenienti dallo S. Kombè e quelli provenienti dallo S. Hispidus (lo S. H. è registrato dalle farmacopee : francese 5ªe, 1908, germanica 3ªe, 1890, austriaca 7ªe, 1889, belga

supplemento 2ªe, 1892 e 1896, chilì 2ªe, 1905, croata 2ªe, 1901, spagnola 7ªe, 1905, stati-uniti 10ªe, 1916, italiana 1ªe, 1892 e 3ªe, 1909, norvegese 3ªe, 1895, romania 3ªe, 1893, russa 4ªe, 1891 e 6ªe, 1910, svizzera 3ªe, 1893, venezuela 1ªe, 1898 e 2ªe, 1910. Lo Strofanto K. è registrato dalle farmacopee : tedesca 3ªe, 1890 e 5ªe, 1910, argentina 1ªe, 1898, austriaca 8ªe, 1906, danese 6ªe, 1893 e 7ªe, 1907, spagnola 7ªe, 1905, stati-uniti 8ªe, 1893 e 10ªe, 1916, filandese 5ªe, 1914, ungherese 3ªe, 1909, norvegese 3ªe, 1895 e 4ªe, 1913, paesi-bassi 4ªe, 1905, regni-uniti 3ªe, 1885 e 5ªe, 1914, russa 4ªe, 1891 e 6ªe, 1910, serba 2ªe, 1908, svizzera 4ªe, 1907, venezuela 1ªe, 1898 e 2ªe, 1910. Le farmacopee : francese supplemento 4ªe, belga 3ªe, messicana 3ªe e 4ªe, nominano lo S. Hispidus D. C. var. Kombe. Le farmacopee : greca 2ªe e 3ªe, giapponese 2ªe e 3ªe, non specificano la specie di strofanto. La farmacopea italiana 4ªe, 1920 nomina lo S. K. e S. H.) ed alcune registrano la prova con acido solforico come carattere tanto più importante per l'accertamento della droga in quanto che il riconoscimento botanico è spesso difficilissimo.

Ma questa semplicissima reazione, che dovrebbe dare colore verde smeraldo coi semi di S. kombè e colore rosso coi semi di S. ispido, ecc, all'atto pratico ha tante strane ed improvvise deviazioni dalla regola da presentare serie difficoltà di esecuzione. Essa inoltre, anche se positiva e brillante nei semi, viene col tempo a modificarsi o mancare, tanto nei semi accuratamente conservati che, e specialmente, in quelli esposti alla luce o male confezionati.

Per poterla rimettere in evidenza e fare sì che i semi non vengano confusi con quelli di altre specie di strofanto, BALDONI suggerisce di adoperare, invece dell'acido solforico concentrato, quello diluito, senza però poter precisare quale sia più adatto, e consiglia le diluizioni 70-80 % come quelle che possono dare il maggior numero di reazioni positive.

All'atto pratico però è necessario agire con sucessive diluizioni di acido solforico per poter avere una debole reazione verde ma, anche usando questi artefici, spesso, a concentrazioni poco diverse tra loro, compare la reazione rossa, ma più spesso ancora non compare nè l'una nè l'altra e la sezione si colora in giallo oro se la concentrazione dell'acido è debole, si abbruna se è forte. Ed anche riuscendo ad ottenere, coll'impiego delle diverse diluizioni, la reazione verde nello spaccato del seme, essa è spesse volte, nei semi invecchiati, debolissima e tale da lasciarci perplessi se si tratti o no di semi di strofanto kombè, essendo noto che esistono semi differenti dal kombè e dall'ispido capaci di dare reazione verde con acido solforico, come i semi dello S. Schuchardtii.

Perciò, nota giustamente lo stesso BALDONI, la reazione con a. solforico sui semi di strofanto può dirsi positiva, solo quando il colore ottenuto è di un bel verde smeraldo.

Ma ottenere questa reazione in modo non dubbio non è sempre possibile, anche ricorrendo, come già propose HOLMES (1), alle reazioni microchimiche pure tanto delicate e sensibili. Coll'uso del microscopio si urta sù per giù colle stesse difficolta ed inconvenienti, inoltre non è lo stesso apprezzare un colore evanescente in campo illuminato per trasparenza.

Siccome la dimostrazione di questa reazione non è mai certa e costante, non si produce mai ugualmente in tutte le parti del seme, varia, colla concentrazione dell'ac do, dal rosso al verde per uno stesso seme, ed anche, per la stessa concentrazione di acido per semi dello stesso tipo, come del resto riconoscono chiaramente le farmacopee di molte nazioni (svizzera, austriaca, francese, giapponese) ci viene fatto di chiederci quale fra tutti questi colori dobbiamo pigliare in considerazione, e perchè l'uno e non l'altro?

Questa domanda se l'ha già fatta DI MATTEI (4). Egli pure constata l'indeterminatezza di questa reazione e la indiscutibile coesistenza dei due colori, verde e rosso, nello stesso seme, come pure il comparire improvviso e inaspettato del colore rosso senza precedenti degradazioni cromatiche verdi.

Questo problema sarebbe risolto da tempo se i principi attivi contenuti nei diversi tipi di seme di strofanto fossero dei composti chimici bene definiti e con reazioni tipiche. Invece, come succede per i semi, le diverse strofantine del commercio non presentano reazione costante rossa o verde, ma questi colori si producono e si alternano a vicenda in imprevedute combinazioni cromatiche. E questa incostanza è così frequente da essere ufficialmente riconosciuta dalla farmacopea francese ed inglese.

Non essendo possibile risolvere il problema per questa via ed essendo DI MATTEI convinto che la reazione che presentano i semi di strofanto k. abbia la sua importanza, perchè la maggior parte delle farmacopee hanno accettato questo seme, e, se la reazione non è esclusiva e costante, è tuttavia abituale in esso, ha cercato di mettere la strofantina contenuta nei semi nella possibilità di trovare da se l'adeguata concentrazione di a. solforico, — come era facile arguire dalle precedenti esperienze del BALDONI, — per poter dare la reazione verde, allontanandola dalle influenze collaterali delle varie sostanze contenute nel seme assieme ad essa, e vi è riuscito molto bene con un metodo semplice, pratico, ed ingegnoso, applicabile anche alla tintura di strofanto, che espone dettagliatamente nel suo lavoro sopra ricordato.

Dai lavori di BALDONI e DI MATTEI si deduce quindi che è possibile in determinate condizioni tecniche mettere sempre in evidenza la reazione cromatica verde che i semi di strofanto k, danno con a. solforico e che debbono esistere delle cause varie che influenzano e disturbano questa reazione.

Io, in un precedente lavoro (5), partendo dal fatto, rilevato da commentario della farmacopea americana, che semi appartenentl allo stesso tipo botanico e persino allo stesso frutto, possono darei reazione diversa con l'a. solforico, e dall'osservazione fatta da BALDONI che nei semi invecchiati la reazione si indebolisce e manca nelle altre parti del seme, mentre si conserva a lungo nell'endosperma, ho dimostrato che nella buccia e negli enbrioni di semi di strofanto k. esistono sostanze capaci di fare scomparire, dopo 24 ore, alla T. di 30°, la reazione verde smeraldo caratteristica che la strofantina Merck dà quando è trattata con a. solforico 80 %, e che queste sostanze mancano nell'endosperma dei semi e vengono distrutte riscaldando i semi alla T. di 100° per mezz'ora.

Da queste mie ricerche si deduce quindi indirettamente che nell'endosperma dei semi di strofanto vi debbono essere condizioni favorevoli tali da permettere che la reazione verde, che i semi danno quando sono trattati con a. solforico, si mantenga in esso più a lungo; esse confermano pure le accurate osservazioni registrate da BALDONI: *quello invece che si può asserire con sicurezza è che quando si vuole avere una reazione che tolga! il dubbio è più opportuno fare la ricerca nell'endosperma che sul seme spaccato o sull'embrione isolato. In molti casi in cui la reazione sul seme spaccato o sull'embrione si è mostrata incerta, l'endosperma ha dato risultato netto e sicuro* e consiglia di fare la reazione collocando la buccia colla faccia interna rivolta verso il fondo della capsula in modo che l'endosperma vada a contatto colla capsula, e, facendo strisciare la buccia, quando la reazione è positiva, si determina una macchia verde smeraldo più o meno brillante, ecc ; e quella di DI MATTEI : *per di più occorre mettere in evidenza che la reazione non si produce ugualmente in tutte le parti del seme, ma che essa appare particolarmente manifesta nell'embrione e verso il periderma.*

Come avviene dunque che, mentre la reazione si mantiene a lungo e sicura nell'endosperma, noi invece agendo coll'a. solforico sui semi di strofanto abbiamo differenti colori che rendono non solo sovente dubbia l'interpretazione della reazione, ma possiamo a volontà produrre l'uno o l'altro colore a seconda dell'a. solforico impiegato?

Quali possono essere le cause che disturbano questa reazione non mai sicura e soggetta a variazioni non sempre attribuibili al tipo botanico, nè alla temperatura ambiente, nè alla concentrazione dell' acido, nè alle molte cause invocate per giustificare l'apparizione inaspettata di un colore rosso o rossastro invece del verde caratteristico?

Essendo, secondo me, presumibile che le cause ricercate di queste variazioni cromatiche possano risiedere nel seme stesso, io ho continuato in questi ultimi tempi lo studio di questo argomento e dopo una lunga serie di lunghe e laboriose esperienze infruttuose, sono rius-

cito a precisare le condizioni nelle quali si può ottenere dai semi di strofanto una reazione costante, indipendentemente dalle concentrazioni dell'a. solforico adoperato ; e le ragioni per le quali, facendo agire l'a. solforico sul seme, si hanno variazioni cromatiche a seconda della concentrazione dell'acido.

I risultati di queste ricerche li comunico in appresso colla speranza di portare un utile contributo alla soluzione di questo argomento che si dibatte da tempo tra gli studiosi.

PARTE SPERIMENTALE.

Tutti i campioni di semi di strofanto che ho potuto ritirare dal commercio sotto il nome di strofanto kombè od ispido risultarono sempre, ad un attento esame, di una mescolanza degli uni e degli altri.

Purtroppo non sarà possibile rimuovere questo stato di cose dal commercio — tutto il mondo è paese sinchè i semi di strofanto ispido saranno meno richiesti. Essi valendo meno nei paesi di origine di quelli della varietà kombè si presteranno sempre utilmente per la sofisticazione della droga ufficialmente richiesta dal maggior numero di farmacopee.

Questa sofisticazione è inoltre aiutata dal fatto che non sempre è possibile e facile distinguere i diversi tipi di semi di strofanto sia dai caratteri botanici sia colla reazione coll'a. solforico.

Nel corso di queste ricerche mi sono potuto persuadere della verità che ho appena accennata nella prima nota (5) che la buccia e specialmente i peli dei semi disturbano la reazione con l'a. solforico. Le ricerche infatti praticate sui semi privati dalla buccia presentano già reazione più manifesta, che varia tuttavia di colore col variare della concentrazione dell'acido impiegato, e che va da un colore rosso deciso all'azzurro violaceo per i semi di s. ispido, e da un colore talora verde ad un colore talora rosso per i semi di strofanto k. senza però prendere col tempo quella tonalità color foglia morta più o meno carica che tanto disturba queste reazioni.

Non starò a rifare la storia dei numerosi ed inutili tentativi fatti per ottenere una reazione sempre costante. Dirò solo che quando la mia attenzione fu portata sulle diverse parti separate del seme le mie ricerche furono coronate da pieno sucesso e tale da farmi ritenere che questa questione sia ormai avviata verso la soluzione.

Tecnica. – La tecnica da me usata per separare le diverse parti del seme è semplicissima e alla portata di tutti ed è la stessa che ho esposto nella prima nota (5) e che qui riporto.

I semi di strofanto vengono posti in acqua tiepida (40°) per un quarto di ora circa.

Incidendo con la punta di una pinzetta la buccia, dalla parte opposta all'embrione, e sprizzando dolcente il seme tra le dita, si spreme l'embrione (per comodità chiamo embrione i cotiledoni e l'embrione) avvolto nell'endosperma.

Si incide l'apice dell'endosperma, dalla parte opposta all'embrione, si sprizza tra le dita e si fanno saltare i cotiledoni coll'embrione.

La buccia si butta, l'endosperma si apre lungo un fianco, e poi endosperma ed embrione si asciugano tra carta bibula.

Le reazioni furono sempre praticate su sezioni della stessa grandezza, di endospermi e di embrioni, in capsule separate di porcellana.

Le reazioni che presentano con a. solforico le sezioni degli endospermi sono sempre nette e decise e tali da non ammettere dubbi qualunque sia la concentrazione dell'acido impiegato. E' verde smeraldo per gli endospermi dei semi di strofanto k., rossa per quelli di strofanto h.

Credo ovvio fare osservare che queste reazioni compaiono presto nelle forti concentrazioni di a. solforico (90 %- con.) ma durano poco, perchè il verde diventa sempre più cupo e dopo 1'–2' arriva al verde nero, mentre l'acido solforico circostante si colora in verde ; compaiono invece lentamente, ma si mantengono più a lungo (anche 24 ore) e di un vivace verde smeraldo, che si diffonde nell'a. solforico circostante, nelle altre concentrazioni (60–80 %).

La colorazione rossa presentata dagli endospermi dei semi di strofanto ispido è più stabile e duratura, qualunque sia concentrazione dell'acido usata, di quella verde degli endospermi di s. kombè.

Le sezioni di embrioni di s. kombè presentano colorito diverso a seconda delle concentrazioni di acido usate. In genere si colorano in verde colle deboli concentrazioni (60-70- %) mano mano poi che si aumenta la concentrazione dell'acido si colorano in un rosso più o meno violetto o azzurro.

Le sezioni invece di embrioni di s. ispido presentano una maggior costanza di reazione : rossa per le deboli concentrazioni, rossa violacea-azzurro per le forti.

Le diluizioni di a. solforico furono fatte a volume.

Queste reazioni cromatiche si possono avere nitidissime anche usando concentrazioni debolissime (fatte ad occhio) di a. solforico. In tal caso però bisogna riscaldare leggermente la capsula di porcellana. Come si evapora l'acqua, e si ha l'adeguata concentrazione di acido, gli endospermi di s. kombè reagiscono sempre verde smeraldo brillante, gli embrioni verde o rosso, a seconda della concentrazione ottenuta ; gli endospermi e gli embrioni di s. ispido colore rosso-violaceo debole.

La reazione, così praticata sugli endospermi di s. kombè, si inizia ai bordi della soluzione acida con un colore verde, prima chiaro che

va sempre più accentuandosi, poi, mano mano che l'acqua evapora ed il calore aumenta, la zona esterna da verde diventa bruna-violacea, mentre nell'interno si produce una nuova colorazione verde che diventa sempre più manifesta.

Per amore di brevità riporto solo alcuni protocolli delle tante esperienze praticate.

Esperienze.

ESPERIENZA I.

Campione 1. — Semi di strofanto avuti dalla farmacia Papalìa di S. E. di Aspromonte ed ivi esistenti da oltre 15 anni.

Sono mal conservati, deteriorati, frammentati, tarlati, solo pochi semi appaiono bene conservati. Sapore amaro intenso. All'esame microscopico risultano semi di s. kombè.

Le sezioni trattate con a. solforico 80 % danno alcune colore bruno, altre colore rossastro, altre colore verdastro. Col metodo di BALDONI colore fugace verde.

Sia i semi tarlati che quelli intatti vengono separati in endosperma e embrione col metodo sopra citato.

La separazione, dato il cattivo stato dei semi, presenta qualche difficoltà che si riesce a vincere colla pazienza.

15-2-25. *Endosperma.* — Acido solforico conc. — Verde smeraldo che dopo pochi secondi passa al verde cupo e dopo pochi minuti al verde nero. L'acido si colora in verde e tale si mantiene per ore.

A. solf. 90 %. La stessa reazione, ma le diverse tonalità del colore verde durano più a lungo, così pure la colorazione dell'acido.

A. solf. 80 %. Dopo 2″ i bordi della sezione si colorano in verde tenue che lentamente passa al verde smeraldo e poi il colore si diffonde sulla sezione.

L'acido dopo 2-3′ si colora in verde. Questi colori si mantengono a lungo.

A. solf. 70 %. La stessa reazione. I colori appaiono più lentamente ma si conservano per ore (anche 12 ore).

A diluizioni inferiori la reazione verde compare riscaldando lentamente la capsula.

Embrione. — A. solf. conc. — Dopo pochi secondi compare colore rosso che poi lentamente passa al violaceo e indi al bruno foglia secca. L'acido si colora in rosso e poi in bruno.

A. solf. 90 %. Come sopra, ma la comparsa e la degradazione dei colori avviene più lentamente.

A. solf. 80 %. Alcune sezioni di embrione diventano dopo pochi secondi (5-10″) colore verde smeraldo che poi passa al verde-bruno-rossiccio, altre pigliano invece il colore rosso che poi lentamente vira al rosso violaceo ed all'azzurro. L'acido si colora in verde.

A. solf. 70 %. I più delle sezioni pigliano il colore verde che diventa intenso dopo 5-6', altre pochissime una tinta rosso-verdiccia che lentamente passa all'azzurro verdiccio. L'acido si colora in verde.

A diluizioni inferiori, riscaldando la capsula, si ha talora colore verde, talora verde-violaceo o rossastro.

Esperienza II.

Campione II. — Semi di strofanto ispido acquistati dalla casa Merck nel 1911.

Apparentemente sono bene conservati e sembrano buoni semi. Colore piattosto bruno, sapore disgustoso ma non amaro.

Le sezioni trasverse con a. solf. 80 % danno colore bruno indeciso, col metodo Baldoni colore rosso-bruno fugace.

16-2-25. Si toglie la buccia e si separano i semi in endosperma ed embrione col metodo sopra citato.

Endosperma. — Le sezioni, a qualunque concentrazione (70 %-conc.) venga usato l'acido, si colorano in rosso vivo che si mantiene per ore ed ore. L'acido si colora in rossastro.

Usando l'acido a diluizioni inferiori (fatte ad occhio) e riscaldando la capsula si ha ai bordi colore rosso-violaceo.

Embrione. — Le sezioni con a. solf. conc. e 90 % si colorano presto in rosso che poi passa lentamente al rosso bruno. L'acido si colora in rosso.

Con a. solf. 80-70 % si colorano lentamente in rosso acceso che si mantiene per ore. L'acido si colora in rosso.

In questo campione si rinvennero pochissimi semi che presentavano reazione diversa : Gli endospermi si colorano in color verde foglia secca a qualunque concentrazione si usi l'acido, gli embrioni in rosso violaceo con a. solf. 70-80 %, in rosso che passa all'azzurro colle altre concentrazioni piu forti.

Le sezioni di endosperma trattate con acido diluito a caldo danno un colore verde chiaro.

All'esame risultarono semi di S. Kombè.

Esperienza III.

Essendo stati i risultati sempre concordanti, in questa esperienza raggruppo un gran numero di ricerche fatte sopra numerosi campioni (10) di semi di strofanto avuti dalla casa Erba, Worcks O' Condor, ecc, o prelevati da diverse farmacie di Messina e delle Calabrie·

I campioni più vecchi risalgono al 1911, i più recenti al 1924. Si presentano in vario stato di conservazione : alcuni tarlati, altri apparentemente bene conservati. Semi di colore verde pallido o bruno.

Tutti i campioni risultano in massima di semi di s. kombè mescolati con varie percentuali di semi di s. ispido.

Sapore amaro intenso i semi di s. kombè ; sapore disgustoso, appena amaro, i semi di s. ispido.

Le sezioni traverse dei semi trattate con a. solf. 80 % non danno mai reazioni nette e tali da poter diagnosticare il seme. Col metodo di BALDONI o di DI MATTEI si riesce in parte e se i semi non sono molto deteriorati.

I risultati ottenuti sperimentando sulle diverse parti separate del seme furono invece sempre uguali e costandi. Raggruppo perciò le esperienze, fatte sopra centinaie di semi, in un unico protocollo.

Endosperma. – S. kombè. Le sezioni, in tutte le concentrazioni di acido usate (60%-conc.) reagiscono sempre verde smeraldo. Questo colore si mantiene per lunghissimo tempo nelle concentrazioni 60-80 % e si diffonde nell'acido, nelle altre concentrazioni il verde passa lentamente al verde nero. L'acido resto colorato in verde smeraldo per molto tempo.

Riscaldando le sezioni con a. solf. molto diluito, si colorano in verde smeraldo.

Embrioni. – S. kombè. Le sezioni si colorano per lo più in un bel verde smeraldo colle deboli concentrazioni (60-80 %) ; alcune però prendono un tono rosso dopo poco, e nettamente rosso col tempo.

Colle altre concentrazioni (90%-conc.) le sezioni danno per lo più reazione rossa intensa che col tempo passa al violaceo e poi al bruno. Poche sezioni reagiscono verde smeraldo che presto passa al grigio foglia secca e poi al rosso-azzurro-bruno.

Endospermi. Embrioni. S. ispido. — Non riporto i protocolli perchè i risultati sono identici a quelli descritti nella II esperienza.

Come dunque lasciavano prevedere le mie anteriori esperienze e quelle degli autori che mi hanno preceduto — SHARP, BALDONI, DI MATTEI, ecc. – grande importanza hanno sulla reazione con a. solf. la parte del seme dove si esegue la reazione e lo stato di idratazione dello stesso.

Nell'endosperma si trovano le migliori condizioni perchè la reazione con a. solf. si conservi a lungo e, in opportune condizioni sperimentali, si renda chiaramente manifesta indipendentemente dalle diverse concentrazioni di acido adoperate.

L'endosperma dei semi di s. kombè infatti reagisce con a. solf. sempre verde smeraldo, o verde foglia secca se è molto vecchio, quello di s. ispido sempre rosso.

Uguale costanza di reazione invece non presentano gli embrioni dei semi di s. kombè od ispido. A seconda della concentrazione del l'acido abbiamo tutta una tavolozza di colori che va dal verde al rosso per quelli di s. kombè, dal rosso al rosso azzurro per quelli di s. ispido.

E' proprio a questa incostanza di reazione degli embrioni, unita

a tutti gli inconvenienti altrove citati per la buccia, che si deve se la reazione praticata con a. solf. sopra le sezioni di semi di strofanto, è incerta e malsicura. A seconda della concentrazioni dell'acido adoperato si ha negli embrioni e nella buccia tutta una gamma di svariati colori che combinandosi tra loro e sovrapponendosi ai colori dati dall'endosperma accrescono l'incertezza di riconoscere ed identificare il colore fondamentale e il più delle volte lo mascherano completamente.

PARTE SECONDA.

Introduzione.

Stabilito per quali cause i semi di strofanto danno con a. solf. talora le note reazioni verde smeraldo o rossa, talora invece altre colorazioni varie e confuse ; mi sono proposto di studiare se sia possibile e come, rendere stabile nei semi la reazione con a. solf., prima brillante e vivace, poi, mano mano che i semi invecchiano, sempre più debole e attenuata, o rilevabile solo con tecnica adatta.

Queste ricerche sulle condizioni di conservazione della reazione con a. solf. nei semi di strofanto si impongono anche per il fatto che è presumibile che i semi invecchiando subiscano il destino di tutte le droghe di non facile conservazione e perdano alquanto dalla propria attività.

Ora, sebbene non esista un rapporto diretto tra attività biologica e la reazione che i semi di strofanto danno con a. solf.-perchè mi è stato possibile, durante il corso di altre ricerche, in parte pubblicate (6) in parte inedite, vedere che soluzioni di strofantina rese, per condizioni di ambiente speciali, indifferenti per la rana, reagiscono ancora verde smeraldo con a. solf. — tuttavia il saggio dei semi con a. solf. può costituire un ottimo criterio di orientamento nell'esame e nel riconoscimento delle diverse partite dei semi di strofanto tanto più importante in quanto è alla portata di tutti.

Già PATTA (2-3) ha dimostrato che il comportamento dei semi di strofanto, di fronte all'a. solf., costituisce un criterio farmacologico importante per l'apprezzamento del loro valore farmacoterapico, giacchè i semi reagenti in verde con a. solf. si dimostrarono con assoluta costanza dotati di attività farmacologica maggiore in confronto di quelli reagenti in rosso o negativi.

Non sappiamo invece sinora in modo sicuro se i semi di uno stesso tipo di strofanto invecchiando, come si indebolisce in essi la proprietà di reagire con a. solf., perdano pure alquanto della loro attività (2-3) ma è probabile che ciò succeda in piccola parte perchè, come io stesso ho dimostrato (6), nel seme, e specialmente nell'endosperma e nella

buccia, vi sono delle sostanze capaci di rendere col tempo nou tossiche soluzioni di strofantina in principio attivissime sul cuore di rana.

Lo stabilizzare i semi di strofanto avrebbe quindi importanza doppia: da una parte — data la varietà dei semi di strofanto, non tutti ugualmente attivi ed il fatto che semi di una specie vengono in commercio commisti con semi di un'altra, o quelli dichiarati provenienti da una data specie appartengono invece ad altre specie — si potrebbe sempre e in ogni tempo avere una reazione che permette con sicurezza identificare il seme e scoprire la frode, cosa attualmente non sempre possibile date le grandi difficoltà che presenta all'atto pratico lo stabilire per i semi, quali vengono in commercio, la specie cui appartengono; dall'altra si potrebbe sperare che usando sempre semi che presentano una determinata reazione, o verde o rossa, si avrebbero delle strofantine o delle tinture di ben conosciuta e costante attività terapeutica.

Non vi può dunque essere dubbio sulla opportunità di ricercare i mezzi più adatti per conservare per lungo tempo nelle migliori condizioni i semi di strofanto come già si è fatto per un gran numero di droghe, e specialmente per un'altra droga cardiocinetica, la digitale, la quale si deteriora e perde facilmente della sua attività.

Tutti gli AA. sono d'accordo sull'opportunità di essicare le foglie di digitale, e di essicarle rapidamente. Così Rapp (7) sostiene che riscaldando le foglie in autoclave a 105° C. per 10' si ottiene una droga priva di enzimi, capace di conservare il suo valore attivo anche in caso di umidità, e la casa Caesar et Loretz mette in commercio foglie sterilizzate a 110° C. per 5'-10', colla denominazione di digitale titolata e ne indica sull'etichetta il valore V calcolato col metodo di Focke.

Non tutti gli AA. però sono concordi sul modo come essicare rapidamente le foglie.

Alcuni sostengono che il riscaldamento al di sotto di 120° non determina scissione dei principi attivi delle foglie, altri invece raccomandano l'essicazione, subito dopo la raccolta delle foglie, a T. non superiore a 100° C, altri preferiscono l'essicamento in stufa ad aria calda fatto in meno di due giorni, altri la semplice temperatura ambiente, che nel periodo estivo, e in certe regioni, è sempre elevata.

Si è pure visto che non basta essicare le foglie per avere a disposizione una buona droga. Bisogna inoltre conservare le foglie intere in piccole quantità in vasi di 150-200 gr., ben chiusi, affinchè non assorbano umidità. La droga polverata si conserva male e perde col tempo la sua attività come osservò Zilgiem paragonando diverse polveri di digitale del commercio e come osservò Hatcher ed Eggleston per le polveri di digitale stabilizzate della ditta Boulanger et Dause.

Che anche nei semi di strofanto, come nelle foglie di digitale, possano esistere dei fermenti non mi pare possa nascere dubbio specie dopo le mie ricerche (5-6) nelle quali ho dimostrato che soluzioni di

strofantina attivissime conservano bene la reazione con a. solf. e l'attività biologica in presenza delle diverse parti del seme essicate a 100° C., o bollite per 5', mentre le perdono, dopo tempo più o meno lungo, a contatto di certe parti del seme normale.

Tutte le ricerche dunque dirette a stabilire i mezzi migliori di conservazione dei semi di strofanto, potendo avere importanza pratica, sociale e scientifica, ho fatto in questi ultimi tempi, parte in Sicilia parte nella mia Sardegna, delle ricerche in proposito che espongo riassuntivamente in appresso.

PARTE SPERIMENTALE.

A fine dicembre 1923 si prelevano da una piccola partita di semi di strofanto (all'esame la partita risultò costituita di semi di s. kombè mescolati ad una certa percentuale di semi di s. ispido) acquistati dal commercio, N 7 campioni da 10 gr. ciascuno. I campioni vengono essicati in stufa ad aria calda per mezz'ora ad una T. determinata e in modo d'avere sei campioni essicati a sei diverse T. di 50-60-70-80-90-100° ed un controllo di semi che non ha subito alcun trattamento.

Dopo essicati gli endospermi di semi di s. kombè reagiscono con a. solf. verde smeraldo brillante, quelli di s. ispido rosso vivo. Col metodo di BALDONI i semi di s. k. reagiscono verde smeraldo, col metodo DI MATTEI verde smeraldo intenso.

ESPERIENZA I.

Campione normale. — Si prelevano dal campione normale pochi semi di s. kombè i quali (colla tecnica esposta nella prima parte di questa nota) reagiscono intensamente verde smeraldo con a. solf.; e pochi semi di s. ispido che reagiscono collo stesso reattivo intensamente rosso vivo..

Pesi determinati dei due diversi semi furono pestati in mortaio a parte ed estratti ripetutamente con alcool a 70. I residui dell'evaporazione degli estratti alcoolici furono sciolti con quantità determinate di sol. fisiol. 0,9 %.

Le osservazioni furono praticate su rane da tempo tenute in vivaio e del peso medio di 20-25 gr., mettendo il cuore allo scoperto e iniettando nei sacchi linfatici di diverse rane quantità determinate delle soluzioni sopra dette sinchè si stabiliva la dose minima necessaria capace di provocare l'arresto del cuore in 25'-40'.

I risultati delle ricerche furono:

Semi di s. ispido. — La dose minima di estratto di semi capace di determinare l'arresto del cuore in 25'-40' oscilla tra mgr. 5-6,5 di seme.

Semi di s. kombè. — La dose minima di estratto capace di determinare l'arresto del cuore in 25'-40' oscilla tra mgr. 4,5-5,5 di seme.

Esperienza II.

I semi essicati a diverse temperature ed i semi di controllo furono sino a tutto giugno tenuti in cartoccio e abbandonati sopra un mobile in laboratorio. Nel luglio trasportai i campioni in Sardegna.

Ivi essi furono posti ciascuno in boccie separate, chiuse con tela, capovolte ed esposte in terrazzo all'implacabile solleone sardo ed all'umidità notturna dall'agosto al novembre. Ai primi di novembre i campioni furono di nuovo trasportati in Messina ed abbandonati in cartoccio sopra un mobile di laboratorio.

Nel febbraio 1925 si ripeterono le esperienze che diedero i seguenti risultati :

Semi normali. — La reazione praticata colla tecnica abituale sulle sezioni trasversali di seme lascia perplessi sull'identità dei semi e non è possibile, anche usando acidi di diversa concentrazione, avere un colore netto. Colla tecnica di Baldoni si ha reazione debolmente verde con acido solf. 70-80 % per i semi di s. kombè, reazione di colore bruniccio per i semi di s. ispido.

Colla tecnica di Di Mattei debole reazione verde per i semi di s. k. Praticando invece la reazione colla tecnica da me esposta nella prima parte di questa nota si ha :

Endosperma. — Gli endospermi di s. kombè reagiscono verde veronese, quelli di s. ispido reagiscono rosso qualunque sia la concentrazione dell'acido usata. E' da notarsi però che i colori, paragonati a quelli che danno gli endospermi dei semi essicati trattati allo stesso modo, non sono nè brillanti nè vivaci come quelli.

Embrione. — La maggior parte degli embrioni di s. kombè reagisce colore verde debole che passa subito al violaceo e al rosso colle deboli concentrazioni (60-80 %) di a. solf.; in rosso che passa che passa all'azzurro violaceo colle forti concentrazioni.

Le sezioni di embrione di s. ispido reagiscono sempre in rosso, che lentamente passa all'azzurro-bruno-violaceo per le forti concentrazioni di acido.

Saggi fisiologici. — Semi di s. ispido. — La dose minima di estratto capace di determinare l'arresto del cuore in 25'-40' oscilla tra mgr. 6-7 di seme.

Semi di s. kombè. — La dose minima di estratto capace di determinare l'arresto del cuore in 25'-40' oscilla tra mgr. 6-7 di seme.

Semi essicati. — Ad onta che la lunga esposizione al sole ed all' umidità abbiano reso questi semi di un giallo pallido, la reazione con a. solf. si mantiene sicura, brillante e vivace come era alla fine 1923, se fatta colla mia tecnica.

Le sezioni trasversali di seme invece trattate con a. solf. non danno mai colore definito ed apprezzabile con nessuma delle concentrazioni usate ma solo una varietà continua di colori sui quali finisce per predominare presto il bruno. Col metodo BALDONI colore verde smeraldo colle deboli concentrazioni per i semi di s. kombè, colore indeciso per i semi di s. ispido. Col metodo DI MATTEI si ha colore verde per i semi di s. k.

Col mio metodo si ha :

Endospermi. — S. kombè. — Tutte le sezioni di endospermi reagiscono verde smeraldo intenso e brillante con tutte le concentrazioni di a. solf. (60 %-conc.).

Nelle sezioni di semi essicati a 90-100° questo verde e più cupo che in quelle essicate a 50-80°.

L'a. solf. si colora dopo 2'-3' in verde smeraldo. Questo colore si mantiene anche per ore.

S. ispido. — Tutte le sezioni di endospermi reagiscono in rosso vivace con tutte le concentrazioni di a. usate. Le sezioni di semi essicati a 90-100° presentano un rosso di tono più cupo.

L'a. solf. si colora dopo 2'-3' in rossastro e questo colore si mantiene per oltre un giorno.

Embrioni. — S. kombè. — Le sezioni colle concentrazioni 60-70 % reagiscono con un bel colore verde che, per alcune, dopo 4'-5' passa lentamente al bruno rossastro, per altre si mantiene tale. Colle concentrazioni 80 %-conc. alcune sezioni reagiscono verde che presto passa al rosso-violaceo e all'azzurro, altre reagiscono in rosso che tende poco dopo all'azzurro violaceo.

S. ispido. — Tutte le sezioni reagiscono in rosso qualunque sia la concentrazione dell'acido usata, solo che nelle concentrazioni 60-80 % questo colore si mantiene più a lungo mentre nelle forti concentrazioni passa presto al violaceo ed all'azzurro cupo.

Saggi fisiologici. — Semi di s. kombè. — La dose minima necessaria di estratto capace di fare arrestare il cuore di rana in 25'-40' oscilla tra mgr. 5-6 di seme.

Semi di s. ispido. — La dose minima di estratto capace di determinare l'arresto del cuore in 25'-40' oscilla tra mgr. 5,5-6,5 di seme.

Dai risultati sopra esposti non intendo trarre alcuna conclusione definitiva riguardo al problema delle modificazioni che può subire, col tempo e per azione degli agenti atmosferici, l'attività farmacoterapica dei semi di strofanto.

Le piccole differenze osservate nell'attività fisiologica tra i semi normali e quelli essicati, dopo lunga esposizione al sole ed all'umidità, non sono tali da potersi accettare in favore della diminuzione di essa, ma possono dipendere in parte dalla diversa sensibilità degli animali

da esperimento, in parte dal fatto che la tecnica usata ci può solo dare dei dati approssimativi.

Possiamo però ritenere come probabile, in attesa che sperienze condotte dopo un maggior periodo di tempo ci illuminino meglio in proposito, l'ipotesi che i semi di strofanto abbandonati a stessi, come del resto la maggior parte delle droghe, col tempo subiscano modificazioni nella loro attività, modificazioni che si possono evitare conservando opportunamente i semi.

Questo concetto della necessità di conservare in modo adatto i semi è avvalorato dal comportamento della reazione che essi presentano con a. solf. Nei semi non essicati, essa col tempo, pur essendo rilevabile con certe tecniche e specie colla tecnica da me proposta, si indebolisce tanto per i semi di s. kombè che per quelli di s. ispido. Nei semi essicati invece, e specialmente in quelli essicati a 90-100°, la reazione si mantiene intensa, brillante e vivace.

Ora, sebbene la reazione con a. solf. non abbia rapporto colla attività farmacoterapica dei semi (6), come dimostrerò diffusamente in una nota sucessiva, tuttavia si ammette da tutti, ed io stesso sono di questo parere, che è un ottimo criterio per identificare i semi e per formarsi un concetto dello stato di conservazione della droga.

Sarebbe perciò opportuno che le case importatrici, come già molte case fanno per le foglie di digitale, stabilizzassero i semi di strofanto o all'arrivo in Europa o nei paesi di origine, e li ponessero in commercio in vasi ben chiusi in modo da essere sempre possibile, mediante la reazione con a. solf., il riconoscimento del seme e il formarsi un criterio del suo stato di conservazione.

Da queste ricerche inoltre non mi pare giustificato l'ostracismo che molte farmacopee danno ai semi di strofanto ispido.

I semi di s. ispido, se in buono stato di conservazione, valgono quanto quelli di s. kombè. Sono solo alquanto meno attivi e meno resistenti, come dirò nella prossima nota, ai diversi agenti chimici.

Se tutti gli Stati accettassero come officinali tanto i semi di s. kombè che i semi di s. ispido, si potrebbe sperare che le sofisticazioni dei semi oggi tanto deprecate, verrebbero presto a mancare non essendoci più alcun interesse a compierle, e non sarebbe improbabile che sul mercato europeo potessero arrivare, se richiesti, i semi separati a seconda delle diverse specie. In tal modo è presumibile che si potrebbe forse arrivare ad ottenere da ciascuna specie, dei principi attivi di varia ma costante attività terapeutica.

CONCLUSIONI.

Dalle ricerche sopra esposte si possono trarre le seguenti conclusioni che espongo sinteticamente per comodità del lettore:

1. Praticando la reazione con a. solf. sui soli endospermi (vedi

tecnica nel corpo del lavoro) dei semi di strofanto è possibile avere una reazione di colore costante indipendentemente dalla concentrazione dell'acido usata e di distinguere i semi di s. kombè da quelli di s. ispido anche se deteriorati o da tempo conservati.

2. Data la sicurezza e la costanza di questa reazione sarebbe desiderabile che essa fosse accettata e resa obbligatoria dalle diverse farmacopee ufficiali, colla tecnica da me proposta.

3. Siccome la reazione con a. solf. col tempo si indebolisce nei semi abbandonati a se stessi mentre si conserva molto bene in quelli essicati in stufa ad aria calda, e siccome la reazione che i semi presentano con a. solf. è un buon dato, alla portata di tutti, sia per riconoscere la specie del seme che per giudicare del suo stato di conservazione, le case importatrici farebbero bene a stabilizzare, sia nei paesi di produizone sia all'arrivo in Europa, le partite dei semi di strofanto in stufa ad aria calda alla T di 100° C. per mezz'ora e poi conservare i semi in barattoli bene chiusi.

4. Da queste ricerche non appare giustificato l'ostracismo col quale molte farmacopee colpiscono i semi di s. ispido. I semi di s. ispido, se bene conservati, possono equivalere quelli di s. kombè.

L'accettazione ufficiale delle due varietà separate di semi farebbe mancare le sofisticazioni commerciali e forse ci permetterebbe di arrivare ad ottenere, da ogni determinata specie di semi, strofantine e tinture di strofanto di azione farmacoterapica costante e sicura.

BIBLIOGRAFIA.

(Limitata ai lavori citati).

1. A. BALDONI: *Arch. di Far. e di Scienze aff.*, XIX, 1915, pag. 511.

2. A. PATTA: *Bollettino Soc. Med. Chirur. di Pavia*, 1919.

3. A. PATTA: *Ibidem*, XXXIII, 1920.

4. P. DI MATTEI: *Arch. di Farm. e Scienze aff.*, XXXVIII, 1924, pag. 76.

5. L. TOCCO-TOCCO: *Arch. Intern. de Pharm. et de Therap.*, XXVIII, 1923, pag. 289.

6. L. TOCCO-TOCCO.: *Arch. di Farm. e di Scienze aff.*, XXXIX, 1925.

(Veda pure il lettore interessato la bibliografia riportata nei sopra citati lavori).

7. A. BALDONI: *Biochimica e Terap. sperim.*, X. 1923.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R. UNIVERSITA'
DI MESSINA
DIRETTORE G. VINCI.

RICERCHE CHIMICHE E FARMACOLOGICHE SUI RAPPORTI CHE ESISTONO FRA LE REAZIONI CHE I SEMI DI STROFANTO DANNO CON ACIDO SOLFORICO E LA LORO ATTIVITÀ BIOLOGICA

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

Introduzione.

GIÀ CATILLON (1) sul 1888, subito dopo le prime ricerche chimiche di HARDY e GALLOIS sui principi attivi contenuti nei semi di strofanto, dimostrava che la strofantina cristallizzata in aghi, estratta dallo strofanto Kombè e che reagiva verde con a. solf., era più attiva e più pronta della strofantina cristallizzata in lamine che si poteva estrarre dallo strofanto del Gabon e che con a. solf. dava colore rosso brunastro.

Studi posteriori più accurati, specialmente dal punto di vista chimico, fecero aumentare le nostre conoscenze sulle strofantine, sebbene, finora, non sempre con accordo completo di risultati. Infatti in seguito agli studi di ARNAUD abbiamo nozione di due strofantine cristallizzate provenienti dallo strofanto Kombè e dal glabro. Quest'ultima si confonderebbe con una strofantina già descritta da Thoms pure nello strofanto grato, mentre l'altra fu pure riconosciuta da Kolm e Kulisch che gli assegnarono la stessa formula di ARNAUD. Ma, avendo Fraser ottenuto, con un suo metodo, dallo strofanto Kombè una strofantina ben differente da quella di ARNAUD, FEIST, dopo aver confermato le ricerche del Fraser, per diminuire la confusione esistente sulla conoscenza delle diverse strofantine, propose la distinzione in strofantine vere che reagiscono dando colorazione verde con a. solf. e in pseudo-strofantine che reagiscono dando colorazione rossa.

Queste differenti colorazioni che le strofantine assumono con a. solf. stanno a dimostrare che esse non sono un' unica sostanza, ma debbono avere diversa composizione a seconda del metodo di estrazione, della provenienza, ecc. Se così non fosse non sapremmo come spiegarci le differenti reazioni che presentano con a. solf. le strofantine del commercio, differenze che sono così frequenti e costanti da essere accettate da alcune farmacopee.

BALDONI (1) in un suo lavoro accenna alle colorazioni che assumono le strofantine trattate con a. solf., e che quì ricordo : Heffter ha colorazione arancio fino al rosso mattone con una g-strofantina della casa BOEHRINGER, colorazione verde con tono rosso bruno con un'altra strofantina della stessa casa, colorazione nettamente verde con strofantine delle case MERCK e SCHUSCHARDT, mentre BALDONI ha una strofantina della stessa casa SCHUSCHARDT che dà colorazione nettamente bruna. FEIST poi ha colorazione rossa colle strofantine di KOLM e KULISCH, di SCHUSCHARDT e di MERCK, mentre BALDONI ed io possediamo strofantine MERCK che reagiscono con colorazione puramente verde con a. solf.

Esistono dunque varie strofantine chimicamente diverse che reagiscono con diverse colorazioni quando sono trattate con a. solf.

E che effettivamente abbiano una costituzione chimica diversa è dimostrato pure dal fatto che hanno attività biologica diversa. Sono tutte fortemente tossiche, ma alcune meno, altre di più. Molto attive sembrerebbero nelle linee generali le pseudo-strofantine e le h-strofantine amorfe reagenti con colorazione rossa con a. solf., alquanto meno attive le strofantine cristallizzate che con lo stesso reattivo pigliano colorazione verde, ma anche su questo punto l'accordo completo dei risultati è tutt'altro che raggiunto.

Da quanto ho fin qui sommariamente riportato risulta dunque che le strofantine che si estraggono dai semi non sono un'identica sostanza, ma presentano caratteri diversi, — potere rotatorio vario, costituzione chimica, attività biologica —, e reazioni coloranti varie, quando vengano trattate con a. solf.

Lo studio di tutti questi caratteri ha richiamato spesso l'attenzione degli AA., ma ancora non si è riusciti a precisare quale importanza e quale relazione abbia la reazione praticata con a. solf. sui semi di strofanto, sia in rapporto con l'attività farmacoterapica della droga, sia in rapporto con la costituzione chimica del principio attivo.

Per cercare di colmare questa lacuna io mi sono chiesto :

Le reazioni coloranti che i semi presentano con a. solf., sono, ognuna, una proprietà essenziale e costituzionale dei loro diversi principi attivi, e, una volta modificata la reazione colorante ne resta alterato il principio attivo, oppure la reazione colorante è una cosa

accessoria, collaterale, che può modificarsi e cambiare pure restando l'azione della sostanza attiva fondamentalmente la stessa?

E dato che ricerche orientate in tal modo avrebbero grande importanza scientifica — perchè ci permetterebbero, limitatamente e sino a un certo punto, di intravedere qualche cosa sulla costituzione della molecola delle strofantine e dell'importanza nella molecola del gruppo che reagisce con a. solf. — pratica — perchè stabilito un eventuale valore di queste reazione cromatiche potremo utilizzarle sempre che ci fosse necessaria una droga di una determinata azione farmacoterapica — io ho fatto delle ricerche in proposito che comunico in appresso lieto di portare un modesto contributo a questo importante argomento che da oltre mezzo secolo appassiona gli studiosi.

Riporto qua sotto le esperienze senza parlare prima della tecnica generale seguita perchè i dettagli tecnici adoperati saranno dati caso per caso ogni qual volta se ne presenti la necessità e l'opportunità.

PARTE SPERIMENTALE.

1° Ebollizione.

Pochi semi di strofanto Kombè (12 semi) vengono liberati dalla buccia col metodo citato in altra nota (5).

Si incide con la punta di un bisturi tagliente l'endosperma di ogni seme e se ne asporta un brandello che si mette a reagire con a. solf. 80 %.

Alcuni semi, i cui endospermi non reagiscono con colorazione verde smeraldo intensa, vengono scartati.

Gli altri vengono posti con 50 cc. di acqua distillata in capsula di porcellana e fatti bollire per 15' e poi mantenuti per 45' a temperatura di poco inferiore a quella di ebollizione.

Si ritira la capsula dal fuoco, si asciugano i semi tra carta bibula, si asporta colla punta e col taglio di un bisturi tagliente un brandello di endosperma e di embrione dal seme — avendo cura di prelevarlo in un punto più lontano dove si era inciso la prima volta l'endosperma — e si mettono a reagire con a. solf. 80 %.

Lo stesso procedimento si pratica in altri pochi semi (12) di s. ispido. Dopo l'ebollizione si ebbero questi risultati:

S. Kombè. — Alcuni semi, trattati con a. solf. 80 %, reagiscono con colorazione verde smeraldo tanto nell'endosperma che nell'embrione, gli altri invece non danno la reazione verde smeraldo che presentavano prima di essere sottoposti all'ebollizione. Essi trattati con a. solf. 80 %, tanto l'endosperma che l'embrione, pigliano una colorazione appena giallastra che poi lentamente, dopo 10'-15', passa al rossastro e dopo 35'-45' al rosso netto.

Saggio Fisiologico. — Si estraggono separatamente in alcool, colla tecnica citate altrove (8), i semi reagenti in rosso e quelli reagenti in verde, e poi, con la tecnica citata nella stessa nota, si provano sulla rana.

Semi di strofanto KOMBÈ reagenti in verde. La dose minima di estratto, iniettato nei sacchi linfatici, capace di determinare l'arresto del cuore, in 40'-60', oscilla tra 8-10 mgr. di seme di strofanto.

Semi di strofanto KOMBÈ reagenti in rosso. La dose minima di estratto capace di arrestare il cuore in 40-60' oscilla tra 10-12 mgr. di seme di strofanto.

STROFANTO ISPIDO. — Tanto gli endospermi che gli embrioni trattati con a. solf. 80 % reagiscono subito con colorazione giallo-sporco che dopo 10' passa al giallo-bruniccio e poi (25-30') al rossastro.

Saggio Fisiologico. — La dose minima di estratto capace di arrestare il cuore in 40-50' oscilla tra mgr. 10-13 di seme di strofanto.

2° Acqua Ossigenata (Perhydrol).

Da semi di s. Kombè e da semi di s. ispido, liberati dalla buccia, vengono scelti alcuni semi (12) i cui endospermi presentano con a. solf. reazione verde smeraldo intensa per i primi, rossa per i secondi, seguendo la stessa tecnica usata nella prima esperienza. Le due specie di semi scelti vengono divisi ed immersi, in capsule separate, in soluzione di acqua ossigenata (perhydrol 1, acqua 2).

Si lasciano per 24 ore a contatto di questo reattivo, poi si lavano, si asciugano tra carta bibula e si lasciano essiccare liberamente all'aria.

I semi così trattati, si presentano albi, bianchissimi.

STROFANTO KOMBÈ. — Le sezioni di embrioni e di endosperma trattati con a. solf. 80 % si colorano subito in giallo paglierino alcune, altre, rare, in giallo verdiccio. Dopo 2-5' tutte passano al giallo bruno e poi lentamente al rosso bruno netto.

Saggi Fisiologici. — La dose minima d'estratto capace di determinare l'arresto del cuore di rana del peso medio di 20-25 gr. in 40-60' oscilla tra mgr. 8-10 di seme di strofanto.

STROFANTO ISPIDO. — Tanto le sezioni di embrione che quelle di endosperma trattate con a. solf. 80 % si colorano prima in giallo paglierino, che dopo qualche minuto passa al giallo rossastro e dopo 5-6' al rosso-bruno-violaceo-cupo.

Saggi Fisiologici. — La dose minima di estratto capace di arrestare il cuore in 40-60' oscilla tra mgr. 9-11 di seme di strofanto.

3° Bicromato di Potassio.

Semi di s. Kombè e semi di s. ispido, — preparati, colla tecnica più volte citata, in modo che, per i primi, brandelli di endospermi reagiscano in verde smeraldo intenso con a. solf., per i secondi in rosso-vivo — vengono posti in capsule di porcellana separate, in soluzione 0,50 %, appena acida per a. cloridrico, di bicromato di potassio.

Si abbandonano i semi in questo reattivo per 24 ore, poi si lavano in acqua finchè essa non resta più colorata in giallo. I semi, così trattati, di presentano di colore giallo-verdastro pallido.

STROFANTO KOMBÈ. — Sezioni di endospermi, trattate con a. solf. 80% reagiscono subito in verde pallidissimo che presto (1') imbrunisce e passa al color foglia secca, e poi, col tempo, al rosso-bruno. Le sezioni di embrioni invece reagiscono subito in giallo-bruno-verdiccio che poi (2-3') passa al rosso-bruno.

Saggi Fisiolologici. — La dose minima di estratto capace di arrestare il cuore in 40-60' circa oscilla tra mgr. 13-15 di seme di strofanto.

STROFANTO ISPIDO. — Le sezioni di endosperma reagiscono in bruno-rossiccio con a. solf. 80 %, quelli di embrione in color mogano vecchio. Entrambe col tempo (5-15') passano al rosso-bruno deciso.

Saggi Fisiologici. — La dose minima di estratto capace di determinare l'arresto del cuore in circa 40-60' oscilla tra mgr. 14-16 di seme di strofanto.

4° Permanganato di Potassio.

Scelti i semi di s. Kombè e quelli di s. ispido — i cui endospermi, liberati dalla buccia, reagiscano con acido solf. verde smeraldo intenso per i primi, rosso vivo per i secondi — vengono posti in recipienti separati, in soluzione di permanganato I per mille ed ivi lasciati per 24 ore. Dopo si lavano a lungo, si asporta, soffregandoli con carta bibula, il deposito bruno di manganese che li ricopre in parte e si asciugano all'aria su carta da filtro.

I semi appaiono di colore appena gialliccio all'esterno, di colore bianco sporco all'interno.

STROFANTO KOMBÈ. — Gli endospermi e gli enbrioni di alcuni semi reagiscono in puro verde smeraldo con a. solf. 80 % che dopo 1-2 ore passa all'azzurro violaceo, gli endospermi di altri semi reagiscono assumendo prima colorazione giallo-verdiccio che dopo qualche minuto passa al giallo-arancio e poi al rosso-arancio; gli embrioni in giallo-bruno-verdiccio che poi passa al giallo-arancio e dopo tempo al rosso-arancio. Si separano i semi che reagiscono diversamente per il saggio fisiologico.

Saggi Fisiologici. Semi di s. k. reagenti in verde. La quantità minima di estratto necessario per arrestare il cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 10-12 di seme di strofanto.

Semi di s. K. reagenti in rosso. La quantità minima di estratto sufficiente per determinare in 40-60′ l'arresto del cuore oscilla tra mgr. 12-14 di seme di strofanto.

STROFANTO ISPIDO. — Tanto gli endospermi che gli embrioni trattati con a. solf. 80 % si colorano in rossastro pallido che dopo 3′-4′ imbrunisce e passa lentamente al rosso-arancio-bruno.

Saggi fisiologici. — La quantità minima di estratto necessaria per arrestare il cuore in 40′-60′ oscilla tra mgr. 11-13 di seme di strofanto.

5° Acqua di Bromo.

Scelti i semi di strofanto K. e i semi di strofanto i., — i cui endospermi reagiscono rispettivamente in verde smeraldo e rosso-arancio con acido solf. 80 %, — vengono posti in capsule separate con acqua di bromo per 24 ore.

Dopo si lavano in acqua corrente, e si asciugano su carta bibula. I semi così trattati danno:

SEMI DI S. KOMBÈ. — Tanto gli endospermi che gli embrioni reagiscono con a. solf. 80 % con colorazione giallo-paglierino-verdiccia, che si mantiene a lungo e poi passa lentamente al bruno. La colorazione che assumono questi semi ricorda stranamente la reazione che danno gli stessi semi quando sono molto vecchi e deteriorati.

SEMI DI S. ISPIDO. — Tanto gli endospermi che gli embrioni trattati con a. solf. 80 % assumono una colorazione giallo-paglierino che poi passa lentamente al rosso-arancio-vivo.

Saggi Fisiologici:

S. KOMBÈ. — La quantità minima di estratto necessaria per arrestare il cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 10-12 di seme di strofanto.

S. ISPIDO. — La quantità minima di estratto che determina l'arresto del cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 11-14 di seme di strofanto.

6° Ossido di Piombo (ossido pulce).

I semi di strofanto K., — scelti in modo che gli endospermi reagiscano in verde smeraldo intenso con a. solf. 80 %, — ed i semi scelti di s. ispido (endospermi rosso-vivo collo stesso reattivo) vengono posti, dopo sbucciati, in capsule separate, con soluzione acetica di ossido pulce ed ivi lasciati per 24 ore.

Dopo si lavano accuratamente, stropicciandoli dolcementa tra i polpastrelli per allontanare il poco precipitato formatosi sopre

di essi, sinchè non presentano che debolissima reazione acida alla carta di tornasole.

Dopo questo trattamento i semi si presentano di colore appena bruniccio.

S. Kombè. — Tanto alcuni endospermi che alcuni embrioni reagiscono con a. solf. in verde smeraldo intenso che poi lentamente passa al verde nero ; altri reagiscono prima in giallo appena verdiccio che poi lentamente imbruna, passa al rossastro e poi al rosso. Si separano per i saggi fisiologici i semi reagenti in verde da quelli reagenti in rosso.

Saggi Fisiologici. — Semi reagenti in verde. La quantità minima di estratto capace d'arrestare il cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 9-12 di seme di strofanto.

Semi reagenti in rosso. La quantità minima di estratto sufficiente per determinare arresto del cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 13-15 di seme di strofanto.

S. Ispido. — Tanto gli endospermi che gli embrioni reagiscono con a. solf. prima in giallo-paglierino-verdiccio che lentamente passa al giallo-bruno e poi (2-5′) al rosso ed al rosso-arancio vivo.

Saggi Fisiologici. — La quantità minima di estratto per arrestare il cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 14-16 di seme di strofanto.

7º Acido Solforoso.

I semi di s. Kombè e i semi di s. ispido, scelti in modo che gli endospermi reagiscano verde smeraldo per i primi, rosso-arancio per i secondi, vengono posti, in capsule separate, in soluzione satura di SO^2, che si rinnova ogni sei ore, ed ivi lasciati per 24 ore. Dopo i semi si lavano con acqua corrente per poco tempo e si asciugano su carta bibula. Dopo questo trattamento essi presentano aspetto bianchissimo.

S. Kombè. — Alcune sezioni di endospermi reagiscono con a. solf. 80 % colore verde smeraldo intenso che si mantiene a lungo mentre l'acido ambiente si colora in verde ; altre sezioni reagiscono prima in colore verde smeraldo, ma presto i bordi della sezione arrossano e lentamente il colore rosso si diffonde a tutta la sezione Degli embrioni, quelli, i cui endospermi reagiscono in verde smeraldo, reagiscono essi pure in verde smeraldo che presto imbrunisce e passa al rosso-bruno-violaceo, gli altri, i cui endospermi reagiscono in rosso, reagiscono in rossastro che poi passa al rosso vivo.

Per i saggi fisiologici si separano i semi reagenti in verde da quelli reagenti in rosso.

Saggi Fisiologici. — Semi di s. K. reagenti in verde. — La quantità minima di estratto necessaria per arrestare il cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 10-12 di seme di strofanto.

Semi di s. K. reagenti in rosso. La quantità minima di estratto necessaria per arrestare il cuore in 40-60' oscilla tra mgr. 14-16 di seme di strofanto.

S. Ispido. — Tanto gli endospermi che gli embrioni trattati con a. solf. 80 % reagiscono prima giallo-arancio leggero che dopo 2-3' diventa arancio vivo e poi rosso-arancio vivo.

Saggi Fisiologici. — Per arrestare il cuore in 80' occorre l'estratto corrispondente a 12 cgr. di seme.

E' da notarsi però che se la tossicità della h-strofantina è diminuita di molto, non sembra lo stesso dell'attività: anche a piccole dosi il cuore si contrae e si dilata con più energia, come pure si riempie e si svuota meglio.

8° Acido Solfidrico.

I semi di s. Kombè e quelli di s. ispido, dopo averli privati della buccia e dopo essersi assicurati che i loro endospermi reagiscono rispettivamente in verde smeraldo e rosso con a. solf. 80 %, vengono posti in capsule separate in soluzione concentrata di a. solfidrico.

Dopo 24 ore si lavano e si asciugano su carta bibula.

Appaiono bianchi candidi.

S. Kombè. — Tanto le sezioni di embrioni quanto quelle di endosperma reagiscono alcune giallo-verde-chiaro che poi lentamente imbrunisce, altre giallo-verdastro che poi si oscura e dopo piglia il rosso-bruno.

Saggi Fisiologici. — La quantità minima di estratto necessaria per arrestare il cuore oscilla tra mgr. 19-21 di seme di strofanto.

S. Ispido. — Tanto le sezioni di embrioni che quello di endosperma reagiscono con a. solf. 80 % prima giallo rossastro poi colore arancio che lentamente passa al rosso-arancio vivo.

Saggi Fisiologici. — Anche iniettando l'estratto corrispondente a 12-14 cgr. di seme il cuore pulsa sempre dopo 80'. Poscia, tratto, tratto, ha qualche arresto diastolico abbastanza lungo ma, eccitato, anche dopo 2-3 ore, pulsa ancora. (V.S.).

9° Cloruro Stannoso.

Nella soluzione cloridrica di cloruro stannoso vengono posti per 24 ore, e in capsule separate, i semi sbucciati di s. Kombè e quelli di s. ispido i cui endospermi reagiscono rispettivamente verde smeraldo, rosso-arancio con a. solf. 80 %.

Dopo si lavano in acqua corrente, fino a che la sezione del seme sprizzata su carta di tornasole reagisca appena acida, e si asciugano su carta bibula.

S. Kombè. — Le sezioni di endospermi reagiscono con a. solf.

80 % con colorazione gialla che passa subito al verde e dopo 30″ al verde nero. L'acido si colora in verde. Le sezioni di embrione si colorano contemporaneamente, sulla stessa sezione, in certi punti in verde smeraldo in altri in rosso-arancio.

Saggi Fisiologici. — Il quantitativo minimo di estratto necessario per arrestare il cuore di rana in 40-60′ oscilla tra mgr. 8-10 di seme di strofanto.

S. Ispido. — Tanto le sezioni di embrione che quelle di endosperma trattate al solito modo si colorano prima in giallo-paglierino che lentamente passa al colore arancio e poi al rosso vivo.

Saggi Fisiologici. — Anche iniettando l'estratto corrispondente a cgr. 12-16 di seme il cuore pulsa sempre dopo 12 ore. Noto ancora che, pure essendo gli estratti meno tossici, tuttavia sono molto attivi anche a piccole dosi : il cuore si dilata e si contrae con più energia come pure si riempie e si svuota meglio.

10° Solfato Ferroso.

I semi scelti di s. Kombè e i semi di s. ispido sono messi, in capsule separate, in soluzione 5 % di solfato ferroso ed ivi lasciate per 24 ore.

Dopo questo trattamento i semi appaiono colorati in verde. Si lavano e si asciugano su carta bibula.

S. Kombè. — Le sezioni di embrione e di endosperma con a. solf. 80 % reagiscono con colorazione gialla verdiccia che dopo 2′ passa al giallo-bruno e poi al giallo. Poi alcune arrossano altre diventano di colore verde-bruno.

Saggi Fisiologici. — La quantità minima di estratto necessaria per arrestare il cuore in 40-60′ oscilla tra mgr. 7-10 di seme di strofanto.

S. Ispido. — Le sezioni di endosperma e di embrione trattate con a. solf. 80 % assumono colorazione giallo chiaro che passa al giallo foglia secca e poi al rosso-bruno-verdiccio.

Saggi Fisiologici. — Iniettando l'estratto corrispondente a cgr. 12 di semi il cuore si arresta dopo più di un'ora in diastole. Anche dopo tre ore eccitato reagisce bene (v. s.).

QUADRO RIASSUNTIVO-COMPARATIVO.

Specie del seme	Reazione dell' endosperma con H^2SO^4 80 %	Trattamento	Reazione dell' endosperma dopo con H^2SO^4 80% (2)	Quantità (in mgr.) di estratto seme necessario per arrestare cuore	In minuti primi	OSSERVAZIONI.
s. K.	verde smeraldo	ebollizione	verde	8—10	40′—60′	(1) Per brevità dico *rosso* ma si deve intendere: rosso-arancio-vivo (2). Riporto la reazione del solo endosperma perchè l'embrione, anche normale, reagisce variamente.
			rosso	10—12	» »	
s. i.	rosso (1)	» »	rossastro	10—13	» »	
s. K.	verde smeraldo	perhydrol	rosso-bruno	8—10	» »	
s. i.	rosso		rosso-violaceo	9—11	» »	
s. K.	verde smeraldo	Bicromato di K.	rosso-bruno	13—15	» »	
s. i.	rosso		» »	14—16	» »	
s. K.	verde smeraldo	Permanganato di K.	azzurro-viola	10—12	» »	
			rosso-arancio	12—14	» »	
s. i.	rosso	» »	rosso-bruno	11—13	» »	
s. K.	verde smeraldo	acqua di Bromo	giallo-bruno	10—12	» »	
s. i.	rosso		rosso-arancio	11—14	» »	
s. K.	verde smeraldo	ossido pulce	verde-nero	9—12	» »	
			rosso	13—15	» »	
s. i.	rosso	» »	rosso-arancio	14—16	» »	
s. K.	verde smeraldo	acido solforoso	verde	10—12	» »	(3) La tossicità è diminuita, ma non l'attivita: anche a minime dosi il cuore si dilata e si contrae con più energia, come pure si riempie e si svuota meglio.
			rosso	14—16	» »	
s. i.	rosso	» »	rosso	120	80′ (3)	
s. K.	verde smeraldo	acido solfidrico	rosso-bruno	19—21	40′—60′	(4) Il cuore dopo 80′ ha qualche arresto diastolico prolungato, ma eccittato, anche dopo 2-3 ore, pulsà energico (v. nota N° 3).
s. i.	rosso		rosso-vivo	120—140	80′e+(4)	
s. K.	verde smeraldo	cloruro stannoso	verde nero	8—10	40′—60′	(5) Anche iniettando l'estratto corrispondente a 120-160 mgr. di seme, il cuore pulsa sempre dopo 12 ore (v. nota N° 3).
s. i.	rosso		rosso vivo	120—160	(5)	
s. K.	verde smeraldo	solfato ferroso	verde-rosso	7—10	40′—60′	* (6) Il cuore ha arresti diastolici prolungati, ma, anche dopo 3 ore, eccitato reagisce ancora bene (vedi nota N° 3).
s. i.	rosso		rosso-bruno	120	70′e+(6)	

CONSIDERAZIONI.

I risultati ottenuti colle ricerche sopra esposte sono tali e tanti da ben meritare di essere considerati particolarmente, giacchè essi o ci portano fatti nuovi o confermano concetti non ancora ben definiti o permettono di formulare ipotesi e tracciare nuove vie per altre ricerche.

Come bene si può rilevare dal quadro comparativo-riassuntivo delle ricerche la reazione verde smeraldo che gli endospermi di s. Kombè presentano con a. solf. 80 % non resiste all'azione degli agenti ossidanti e riducenti e per essi passa ad un colore rosso o rossastro o rosso bruno che però è ben diverso dal colore rosso-arancio vivo che, con a. solf. 80 %, danno gli endospermi di s. ispido normali.

Lo stesso fatto si verifica negli embrioni di s. Kombè. Mentre normalmente essi reagiscono verde colle deboli concentrazioni (70-80 %) di a. solf. e spesso bruno-rosso colle forti, dopo aver subito l'azione dei diversi agenti chimici sopra citati, reagiscono in rosso più o meno intenso, ma sempre diverso, dal colore rosso-vivo che presentano gli embrioni di s. ispido normali.

La reazione rossa invece che presentano con lo stesso reattivo gli endospermi e gli embrioni di s. ispido, resiste meglio agli stessi agenti chimici, solo che può cambiare il tono della colorazione rossa e diventare meno viva e più bruna.

Queste esperienze stanno ad indicarci che, con molta probabilità di certezza, l'osservazione fatta da BALDONI, che nei semi di s. Kombè, col tempo, la reazione viene a modificarsi o anche a sparire del tutto, si deve a fenomeni di ossidazione o di riduzione che lentamente si compiono sul seme stesso.

Col modificarsi della reazione si modifica anche l'attività biologica dei principi attivi contenuti nel seme.

I semi di s. Kombè, i quali per azione di agenti chimici hanno modificata la reazione, che essi danno quando sono trattati con a. solf. 80 %, da verde smeraldo in rosso, si presentano meno attivi sul cuore di rana di quelli che conservano, dopo lo stesso trattamento, la reazione verde.

Queste esperienze confermano quelle di PATTA (3) che osservò che i semi di strofanto reagenti in rosso sono molto meno attivi di quelli reagenti in verde.

Da queste ricerche una qualche luce viene anche sul fatto spesso commentato e deprecato da tanti AA. della diversa attività delle strofantine del commercio e appoggiano l'idea di BALDONI (1) che non si potranno avere delle strofantine di costante attività sinchè le case procedono all'estrazione dei principi attivi da miscele di semi di strofanto di diverse specie.

La K-strofantina infatti resiste abbastanza bene all'azione

degli agenti ossidanti e riducenti, mentre la h-strofantina resiste meno agli ossidanti e poco nulla agli agenti riducenti.

Ora se si considera che in alcuni metodi di estrazione (per es. in quello riportato da GUARESCHI (7)) del principio attivo si fa spesso largo uso di idrogeno solforato ne verrà di conseguenza che l'attività del principio attivo ottenuto sarà tanto minore quanto maggiore sarà la percentuale dei semi di s. ispido nella partita di semi sottoposta all'estrazione.

Queste esperienze confermano molto largamente quanto esponevo in altra nota (6) che non esiste relazione diretta tra la reazione che i semi presentano con a. solf. e la loro attività biologica. Abbiamo visto infatti che vi possono essere semi di s. ispido che dopo aver subito l'azione di riducenti reagiscono ancora rosso con a. solf. ma sono poco o punto tossici sul cuore di rana, come pure vi possono essere semi di s. Kombè che reagiscono in rosso, dopo aver subito l'azione di diversi agenti chimici, che hanno modificata poco la loro attività normale.

Da quanto ho sopra detto però risalta meglio la grande importanza pratica che ha la reazione che i semi di strofanto presentano quando siano trattati con a. solf. 80 %. Questa reazione, facile e alla portata di tutti, ci dirà sempre, specie se è condotta colla tecnica da me proposta, se il seme appartiene a quella determinata specie di strofanto richiesta e, nel caso positivo, quale giudizio possiamo farci del suo stato di conservazione.

Dal complesso infine delle osservazioni fatte durante il corso di tante ricerche mi sono persuaso del concetto spesso espresso dagli AA. che non è giusto volere dedurre l'attività terapeutica di un cardiocinetico dalla tossicità o meglio dal tempo nel quale il cuore si arresta per una determinata dose di farmaco.

Sia nel corso di altre ricerche (6) che in queste ho potuto osservare l'azione spiegata dalle strofantine o dagli estratti di semi resi poco tossici sul cuore di rana e che non presentavano più le solite reazioni cromatiche con a solf.

Orbene, vero è che queste strofantine o questi estratti non arrestano più, anche a forti dosi, il cuore della rana alla quale venivano in un modo qualunque somministrati (instillazione o iniezione) ma è anche pur vero che, per dosi minime, l'attività cardiaca ne restava profondamente modificata : La sistole è la diastole si compiono energicamente, il cuore si dilata meglio, si svuota meglio sino a diventare bianco tutto il ventricolo. Le strofantine così modificate insomma presentano tutti i vantaggi delle strofantine normali senza presentarne gl'inconvenienti e gli svantaggi che provengono dalla loro tossicità elevata. Perciò io ritengo, ed espongo questa ipotesi col solo valore di opinione personale, che non sarebbe inprobabile che la molecola della strofantina fosse costituita da un nucleo fonda-

mentale, attivo sul cuore di rana e poco o punto tossico, e da diversi radicali tossici e cromofori.

E se le cose stessero in tal modo, sarebbe bene prezzo dell'opera tentare di fare sulla molecola della strofantina quello che la chimica ha fatto sulle molecole della cocaina e della atropina sostituendo opportunamente i diversi radicali. In tal modo si potrebbe sperare di riuscire col tempo ad ottenere una o più sostanze cardiocinetiche, molto attive terapeuticamente e prive di tutti gli spiacevoli effetti secondari che si lamentano nell'impiego della strofantina nelle malattie cardiache.

CONCLUSIONI.

Per comodità di chi legge espongo in sintesi i risultati delle ricerche precedenti :

La reazione verde, che gli endospermi dei semi di s. Kombè presentano con a. solf. 80 %, è modificata dall'azione di alcuni agenti chimici e passa dal verde smeraldo al rosso-bruno o al rosso-arancio.

La reazione rossa invece che gli endospermi e gli embrioni dei semi di s. ispido presentano con a. solf. 80 % è più stabile e si mantiene anche cimentando i semi con gli stessi agenti chimici che modificano la reazione dei semi di s. Kombè.

Il principio attivo (h-strofantina) contenuto nei semi di s. ispido è meno resistente agli agenti chimici di quello (k-strofantina) contenuto nei semi di s. Kombè : La k-strofantina resiste meglio agli agenti ossidanti e riducenti, e perde poco della sua attività ; la h-strofantina modifica alquanto la sua tossicità per azione degli ossidanti, la perde moltissimo per azione di alcune sostanze riducenti.

Non esiste rapporto, dal punto di vista scientifico, tra le reazioni colorate che i semi di strofanto presentano quando sono trattati con a. solf. e la loro attività biologica : semi di s. ispido, resi poco o punto tossici a mezzo di sostanze riducenti presentano sempre colorazione rosso-arancio vivo quando siano trattati con a. solf. I semi di s. Kombè che hanno cambiato reazione da verde in rosso, sono sempre attivi sebbene in grado minore.

Tuttavia la reazione che i semi di strofanto danno quando sono trattati con a. solf., secondo la mia tecnica, può essere un ottimo criterio pratico, e alla portata di tutti, per giudicare dello stato di conservazione e della bontà del seme. Dalle esperienze citate sul corpo della nota risulta infatti che i semi di s. Kombè che, dopo l'azione di agenti chimici, hanno cambiato la reazione da verde in rosso sono meno attivi.

Da questo ricerche risalta la necessità assoluta che le case produttrici operino l'estrazione della strofantina da partite di semi

della stessa specie e non da mescolanze di specie differenti : la h-strofantina è meno resistente della K-strofantina all'azione dei riducenti che sono usati nei processi si estrazione.

Queste ricerche permettono di ritenere come probabile l'ipotesi, che espongo con riserva e con valore di opinione personale, che progredendo gli studi condotti sulla costituzione della molecola della strofantina, ci possano un giorno fornire delle sostanze cardiocinetiche a tipo strofantinico, molto attive terapeuticamente, poco tossiche e scevre da spiacevoli o dannosi effetti secondari.

BIBLIOGRAFIA.

(Limitata ai lavori citati).

1. BALDONI : *Archiv, di Farm. e Scien. aff.*, XIX, 1915, pag. 511.
2. A. PATTA : *Bollet. Soc. Med. Chirur. di Pavia*, 1919.
3. A. PATTA : *Ibidem*, XXXIII, 1920.
4. P. DI MATTEI : *Arch. di Farm. e Scien. aff.*, XXXVIII, 1923, pag. 76.
5. L. TOCCO-TOCCO : *Arch. Intern. de Pharm. et de Ther.*, XXVIII, 1923, pag. 289.
6. L. TOCCO-TOCCO : *Arch. di Farm. e Scien. aff.*, 39, 1925.
7. GUARESCHI : *Commentario della Farmacopea Italiana.*
8. L. TOCCO-TOCCO : *Questo archivio.*

ISTITUTO DI MATERIA MEDICA E FARMACOLOGIA DELLA R. UNIVERSITA DI PARMA.
DIRETTORE INC. ALFREDO CHISTONI.

RICERCHE FARMACOLOGICHE SOPRA UN COLLOIDE DI BISMUTO

PER

PROF. ALFREDO CHISTONI.

Sebbene i primi studi terapeutici della sifilide mediante i preparati di bismuto, per opera del Balzer, risalgano a parecchi anni, possiamo dire che tale metodo di cura ha avuto realmente il suo inizio dal giorno in cui Sazerac e Levaditi comunicavano i loro risultati ottenuti, in conigli inoculati con virus sifilitico o con virus della spirochetosi spontanea del coniglio, mediante somministrazione di sali di bismuto quali il tartrobismutato di sodio e potassio, il citrato di bismuto, il lattato solubile, il sottogallato e l'ossijodogallato di bismuto, ponendo così in evidenza la azione parassiticida del bismuto.

Dopo tali risultati sperimentali, gli stessi autori, portarono la loro osservazione sulla sifilide umana, e di poi una innumerevole schiera di clinici iniziarono le ricerche su tale metodo di cura, discutendone il valore, ponendo in evidenza i vantaggi ed i pericoli tossici, il modo di evitarli. Contemporaneamente venivano preparati numerosi nuovi composti di bismuto, con lo scopo di trovare quello che fra essi meglio si adattasse alle applicazioni terapeutiche senza produrre effetti nocivi secondari. In commercio troviamo una numerosa serie di preparati bismutici consigliati per la cura antiluetica che possono essere divisi in tre categorie e cioè in sali solubili, sali insolubili e preparati colloidali di bismuto. Quale di queste categorie di composti bismutici meglio risponda nella pratica terapeutica, non è possibile dire, data la grande diversità di opinione fra i numerosi osservatori. Una speciale attenzione merita il bismuto allo stato colloidale dopo i buoni risultati terapeutici ottenuti dal DUCREY (1), il quale per primo affermò che il bismuto colloidale, mentre dimostra azione sicura contro la infezione sifilitica, non dà segni di intossicazione, fatti questi confermati da LACAPÈRE e GALLIOT. Diversi sono i preparati di bismuto colloidale posti in commercio per uso terapeutico, ottenuti con svariati metodi di preparazione e a diverso contenuto percentuale di bismuto metallico. Un fatto che ha attirata la mia attenzione sopra

alcuni di tali preparati colloidali, è la poca stabilità di essi, poichè passano con grande facilità dalla fase colloidale ad altre fasi d'aspetto granulare. Ne viene di conseguenza che tali colloidi poco stabili non vengono per nulla assorbiti dal tessuto sottocutaneo, nel quale di solito si introducono, o precipitano non appena sono iniettati nel sangue, via del resto pochissimo usata per la somministrazione di tali preparati di bismuto. E' cosa nota da tempo che il valore terapeutico di un metallo colloidale è in rapporto con la sua stabilità, per ottenere la quale si è ricorsi alla unione di colloidi protettori con il colloide minerale. Un colloide protettore molto usato è la gelatina dializzata. MENEGHETTI (2) di recente, studiando la influenza del colloide protettore sulla azione farmacologica dei colloidi minerali, fa notare che il colloide protettore rappresenta un mezzo che rendendo il colloide minerale più resistente agli agenti precipitanti, permette una più profonda penetrazione nell'organismo ed una azione diretta sopra organi ai quali, senza protettore, il colloide non sarebbe giunto, e quindi può determinare una diversa azione farmacodinamica. Negli anni decorsi, e cioè nel 1913, ebbi occasione di studiare la stabilizzazione di un colloide di mercurio, ottenuto dal Prof. O. SCARPA con metodo speciale di dispersione elettrica, e vidi che mediante soluzione di gelatina dializzata si riusciva a dare al colloide metallico una notevole stabilità, non però quale sarebbe desiderabile per gli scopi terapeutici, e che in base a tale aumento di stabilità veniva ad aumentare il potere tossico del colloide nella cavia.

I protettori che bene servono per la stabilizzazione dei minerali allo stato colloidale sono gli emulsoidi, e ad essi, oltre la gelatina, appartengono diverse altre sostanze come le proteine in genere. Ho quindi pensato di utilizzare come stabilizzatore uno di tali emulsoidi e tentare di ottenere un colloide di bismuto a forte stabilità, alta dispersità e ad alto contenuto percentuale di bismuto. Per la preparazione di tale bismuto colloidale ho fatto reagire un sale di bismuto (fosfato) con quantità sufficienti di idrato sodico in presenza di albume a caldo. Dopo parecchi tentativi ho potuto notare che il preparato colloidale più stabile e disperso è quello che contiene l' 1 % di bismuto. Esso si presenta di color nero piceo; osservato all'ultramicroscopio con il massimo ingrandimento possibile, mostra la fase dispersa costituita da micelle piccolissime con vivace movimento browniano, ed inoltre è dotato di una grande stabilità. Infatti tale preparato non perde per nulla i suoi caratteri colloidali anche se portato alla temperatura di 110°C. e presenta quindi il vantaggio di essere sterilizzabile al calore. Per di più l'aggiunta di modiche quantità di elettroliti (soluzione di NaCl al 0,8 % in parti eguali) non provoca flocculazione neppure dopo molte e molte ore; trattato con soluzione di solfuro di ammonio non dà luogo a precipitato nero di solfuro metallico. Sottoposto a dialisi, nel dializzato non si é dimostrata presenza di metalli

mediante H^2S. Essiccato a temperatura ambiente, indi polverato, dopo circa 14 mesi è stato di nuovo disciolto in H^2O e ammoniaca, ed il liquido ottenuto mostrava all'ultramicroscopio presenza di numerose fini micelle dotate di movimento browniano. Tollera il congelamento senza poi mostrare flocculazione, carattere anche questo, secondo il ZSIGMONDY (3), dei metalli colloidali protetti e stabilizzati. Posto in contatto con acqua ossigenata non la decompone, perchè il bismuto colloidale, secondo quanto hanno dimostrato per primi FOÀ ed AGGAZZOTTI (4), non possiede azione catalitica e neppure azione ossidante diretta. Presenta il fenomeno di Tyndall, e, convenientemente diluito, presenta pure il fenomeno del dicroismo con diversità di colore che va dal rossastro al verdastro.

Per meglio conoscere la costituzione del colloide di bismuto da me preparato, ho creduto non privo di interesse studiare il comportamento di alcune costanti chimico-fisiche del composto colloidale, in funzione della concentrazione, e compararlo a quello fornito, pure nelle stesse condizioni, dal protettore che nel mio caso é un emulsoide (5) e precisamente l'alcalialbumina che si forma col trattamento a caldo dell'albume con idrato sodico. Dico subito che il protettore osservato all'ultramicroscopio si é mostrato otticamente vuoto, cioè privo di micelle. Ho preparato contemporaneamente il bismuto colloidale (bismuto + alcalialbumina) da un lato, ed il colloide protettore (alcalialbumina senza bismuto) dall'altro, usando lo stesso materiale, quindi ho determinato la viscosità delle due sostanze con il viscosimetro di OSTWALD, l'abbassamento del punto di congelamento con il crioscopio di BECKMANN, la densità con il picnometro di SPRENGEL, e tutto questo in funzione della concentrazione.

I risultati ottenuti sono riassunti nella seguente tabella:

BISMUTO COLLOIDALE. (sospensoide) Variazione delle proprietà chimico-fisiche in funzione della concentrazione.				**EMULSOIDE PROTETTORE.** Variazione delle proprietà chimico-fisiche in funzione della concentrazione.			
Concentrazione	Viscosità η 26°C	Densità a 26°C	Abbassamento del punto di congelamento Δ	Concentrazione	Viscosità η 26°C	Densità a 26°C	Abbassamento del punto di congelamento Δ
1	1,947	1,0335	0°,580	1	1,616	1,0165	0°,345
0,50	1,553	1,0175	0°,310	0,50	1,458	1,0095	0°,205
0,33	1,368	1,0110	0°,200	0,33	1,405	1,0055	0°,105
0,25	1,342	1,0083	0°,165	0,25	1,379	1,0035	0°,075
0,20	1,316	1,0060	0°,125	0,20	1,353	1,0029	0°,065
0,16	1,290	1,0052	0°,085	0,16	1,340	1,0023	0°,050
0,14	1,277	1,0048	0°,040	0,14	1,327	1,0017	0°,035

Dalle curve che si ottengono svolgendo i dati riportati nella tabella, si osservano dei fatti interessanti. Il punto più notevole si é che le proprietà chimico-fisiche studiate, sono le stesse ad una data concentrazione per le due sostanze, poichè le due curve si tagliano. Abbiamo due punti singolari alla concentrazione di 0,21 e di 0,33 circa, per quanto riguarda l'abbassamento del punto di congelazione e la densità dell' una e dell' altra ; per la viscosità abbiamo due flessi alle concentrazioni di 0,21 e di 0,33 per la curva dell' emulsoide protettore, mentre per la curva del colloide di bismuto si nota un solo flesso a 0,33. L'interpretazione di questo fatto veramente notevole, non é facile, ma si può supporre che sia collegato a qualche fenomeno di solvatazione (6). Non vi è dubbio oggidì (7) che la natura del colloide in generale vari in funzione della concentrazione, cosi come sembra provato che una dialisi troppo prolungata debba condurre a prodotti colloidali variabili in funzione del tempo e della diluizione con acqua Continuando in quest' ordine di idee ed ammettendo il concetto che esiste un vero equilibrio chimico fra colloide e solvente, il fenomeno di solvatazione accennato potrebbe essere attribuito al fatto che l'emulsoide protettore, che é un idrogelo, satura le sue valenze restanti con molecole di solvente (acqua). Il fenomeno dunque, se esiste, non è di natura fisica e non è certamente dovuto a fenomeni di capillarità atti a rendere l'emulsoide più pesante per mezzo di molecole di solvente meccanicamente racchiuso nei suoi alveoli. Ad ogni modo le determinazioni eseguite provano l'importanza della concentrazione sopra le proprietà fisico-chimiche del colloide, il quale varia certamente poichè non è precisamente lo stesso alle varie concentrazioni, e ciò prova quello che è stato ammesso da qualche autore, che cioè esiste un equilibrio chimico fra solvente e colloide.

La costituzione del colloide di bismuto da me preparato è un poco complessa. Con tutta probabilità si tratta di una fase dispersa, costituita da proteinato doppio di Bi e Na allo stato colloidale, e senza dubbio da solfuro di Bi colloidale formatosi per azione dell'acido solfidrico che si libera durante la disgregazione della molecola proteica per opera dell'idrato sodico. Tale fase dispersa trova come mezzo dispersore ed anche come emulsoide protettore l'alcaliproteina prodotta dall'azione dell'idrato sodico sull'albume. Tratterebbesi di un sospensoide in seno ad un emulsoide funzionante da colloide protettore e ciò starebbe a spiegare la grandissima stabilità della fase dispersa, stabilità di molto superiore a quella che posseggono le altre soluzioni colloidali del genere fino ad ora preparate e studiate. Il colloide di bismuto da me preparato si presta quindi bene per gli studi farmacologici. L'alcaliproteina in esso contenuta non disturba nè modifica le azioni del metallo colloidale, non producendo fenomeni degni di nota anche se introdotta per via endovenosa in dosi alquanto elevate, come ho potuto assicurarmi con esperienze all'uopo eseguite. Inoltre le iniezioni paren-

terali di alcaliproteina nei comuni animali da esperimento, non producono, secondo mia esperienza, fenomeni di anafilassi.

Assorbimento del colloide per varie vie.

Iniziando le ricerche farmacologiche sul colloide di bismuto sopra descritto, ho creduto opportuno osservare prima di tutto il grado di assorbimento da parte del tessuto sottocutaneo, essendo questa la via preferita dai terapisti per la somministrazione dei composti bismutici nella cura della sifilide. E'noto che molti minerali colloidali, introdotti nel sottocutaneo, passano così rapidamente a fase granulare da essere il loro assorbimento quasi nullo. Il LUZZATTO (8) fra i primi, ha fatto notare che l'argento colloidale, introdotto per via ipodermica, non viene affatto assorbito o solo in minimo grado e ciò perchè precipita *in situ* come argento ridotto, ed anche Barbirolli (9), di recente, studiando un solfuro di bismuto colloidale, fa notare che iniettando tale colloide nel sottocutaneo, si osserva, ancora dopo 23 giorni, una macchia nera intensa nel punto di iniezione e nettamente neri si scorgono i vasi linfatici che da essa si irradiano. Ciò dimostra che il colloide iniettato sotto cute, cambia rapidamente di stato fissandosi nel connettivo, e la presenza di solfuro nei linfatici dipende da un parziale assorbimento per tali vie, in un primo tempo, quando il solfuro è ancora allo stato colloidale, e da una rapida precipitazione successiva che ne determina la fissazione e permanenza nel vaso linfatico. Il ritrovare una macchia nera intensa nel sottocutaneo ancora dopo 23 giorni, dimostra come l'assorbimento, dopo il cambiamento dalla fase colloidale ad altra granulare, sia lentissimo. E'evidente che minerali così poco stabili posseggano un valore farmacodinamico ben diverso da quello di preparati del genere stabili e di facile assorbimento.

Ho iniettato il bismuto colloidale da me preparato, sotto cute a conigli e cani in dosi varianti da 1 a 5 cc. corrispondenti rispettivamente a gr. 0,01 - 0,05 di Bi, osservando asepsi ed antisepsi. Le iniezioni non provocano dolore apparente, non determinano reazioni flogistiche locali, disturbi d'indole generale, e modificazioni della temperatura rettale. L'assorbimento deve iniziarsi ben presto ed in grado notevole, poichè nelle urine eliminate nelle prime 12 ore, si riscontra assai evidente la reazione del bismuto eseguita con il sensibile metodo di Dezani (10). Ma non tutto il minerale colloidale viene assorbito. Nel luogo di iniezione permane, ancor dopo 15 giorni, una chiazza lievemente bruna, costituita certamente da colloide passato a fase granulare. Ho voluto anzi dosare la quantità di bismuto presente nella macchia nera residuata ed a questo scopo ho iniettato nel sottocutaneo di un coniglio 2 cc. di bismuto colloidale pari a gr. 0,02 di Bi. Dopo otto giorni, sacrificato l'animale, ho asportato la cute ed il tessuto sottocutaneo di color bruno e in essi ho dosato il bismuto, dopo distruzione della sostanza

organica mediante il metodo di Fresenius e Babo. Non ho potuto dimostrare che tracce di bismuto. Questo fatto prova che la maggior parte del colloide iniettato sotto cute viene assorbito ed in modo anche abbastanza rapido e che solo una piccola quantità è quella che *in situ* cambia di stato fisico per cui o non viene assorbita, oppure solo dopo un tempo assai lungo.

Oltre che dal tessuto sottocutaneo, il colloide di bismuto viene assorbito quasi completamente qualora lo si introduca nella camera anteriore dell'occhio. Infatti ho potuto osservare che iniettando, mediante un finissimo ago da siringa, cc. 0.2 di bismuto colloidale nella camera anteriore di un occhio di un coniglio ad iride chiara,subito dopo l'iniezione non si scorge più l'iride a causa del colorito nero dell'acqueo che in tal modo impedisce la visione. Ma dopo 48 ore l'iride è perfettamente visibile, di colore un poco bruno specialmente nella parte bassa. Dopo 20 giorni l'iride ha ripreso il colore normale, essendo anche scomparso lo stato irritativo dovuto all'iniezione, e non rimane che una sottilissima linea nerastra, con la concavità rivolta in alto, nella parte inferiore dell'iride, linea brunastra che dopo 30 giorni é appena visibile. Ciò sta a dimostrare che, come si è osservato nel sottocutaneo, anche nella camera anteriore dell'occhio solo una piccolissima parte del colloide iniettato cambia di fase.

Per le ricerche del Luzzatto è noto che l'argento colloidale, introdotto per via orale, non viene assorbito dal tubo digerente e lo si ritrova tutto quanto nelle feci. Ho voluto pertanto studiare l'assorbimento del bismuto colloidale per questa via, data la grande stabilità del preparato, potendo avere un certo interesse dal punto di vista terapeutico. Il colloide da me preparato, in presenza di succo gastrico acido, floccula, ma poi nel succo enterico alcalino ritorna allo stato di sol e come tale può venire assorbito. E che venga assorbito viene dimostrato dalla seguente esperienza. Ad un grosso cane somministro per via orale, mediante sonda gastrica, 35 cc. di bismuto colloidale pari a gr. 0,35 di Bi. Il giorno seguente, nelle urine eliminate, trovo presenza di bismuto e cosi per altri due giorni. Durante tre giorni sono state raccolte le feci emesse dall'animale e poi sottoposte alla ricerca del bismuto dopo calcinazione e riprendendo le ceneri con HCl diluito, quindi precipitando il metallo sotto forma di solfuro con corrente di acido solfidrico. Ho trovato gr. 0,068 di Bi e questa quantità riscontrata nelle feci rappresenta certo una parte di colloide che non é pervenuta all'assorbimento, ma anche una parte di bismuto eliminata a mezzo della mucosa dell'intestino crasso in ispecie, come ho potuto verificare con ricerche istologiche che esporrò in seguito. Risulta quindi che il colloide da me preparato, a differenza di quanto avviene per altri metalli colloidali, viene assorbito anche in quantità notevole dal tubo intestinale.

Eliminazione.

In una seconda serie di ricerche ho voluto studiare la durata dell'eliminazione del bismuto dall'organismo, specialmente da parte del rene, sempre somministrando il preparato colloidale per via sottocutanea ed a piccole dosi, tali da non provocare lesioni anatomiche e funzionali sopra i vari organi, riservandomi di studiare più oltre gli effetti di dosi elevate. E' noto che il bismuto si elimina dall'organismo mediante l'urina, le feci, il sudore, la saliva, il latte e, secondo i recenti risultati ottenuti da MULLER, BLASS, KRATZEIZEN (II) con un preparato colloidale di bismuto somministrato in dosi terapeutiche per via intramuscolare, la eliminazione del metallo per la via urinaria dura a lungo, sebbene dopo alcuni giorni se ne trovino nell'urina quantità piccolissime. Con le feci se ne elimina una quantità ben rilevabile, e nella donna mediante la secrezione lattea si eliminano circa mg. 2 % di Bi.

Ho eseguite le mie ricerche sopra cani di media taglia, con rene sano, somministrando il bismuto colloidale per via sottocutanea una sola volta, oppure a dosi giornaliere continuate, ma sempre in quantità non tossiche, e ricercando il metallo nelle urine con il metodo Dezani e nelle feci mediante calcinazione indi precipitazione con idrogeno solforato. I risultati si possono così riassumere.

Mediante la somministrazione unica di 2-3 cc. di preparato colloidale, corrispondente a gr. 0, 2-0,03 di Bi, nelle urine delle prime 24 ore si riscontra una evidentissima reazione del bismuto. Nelle urine eliminate dopo 48 ore, la reazione è meno evidente ; appena visibile dopo tre giorni, e non più apprezzabile in seguito. La quantità di Bi che si elimina per le urine è piuttosto piccola. In un cane, al quale somministrai per via endovenosa gr. 0,18 di Bi colloidale, raccolsi le urine fino a che la reazione Dezani dimostrò presenza di metallo. In tutta l'urina raccolta riuscii a dosare gr. 0,046 di Bi e nelle feci sono riuscito ad osservare un lieve precipitato di solfuro di bismuto in quelle eliminate dopo 48 ore. Somministrando il colloide di bismuto alla dose di 5 cc. sotto cute, e per cinque giorni consecutivi, ho continuato a riscontrare positiva la reazione del metallo nelle urine per sette giorni successivi all'ultima iniezione, con curva decrescente riguardo alla intensità di reazione, e nelle feci ho dimostrato la formazione di solfuro di bismuto per tre giorni consecutivi dopo l'ultima iniezione.

Come si vede la eliminazione del Bi per le urine è alquanto lenta e credo che piccole quantità di metallo continuino ad eliminarsi per molto tempo ancora, ed esse sarebbero senza dubbio dimostrabili con reazioni più sensibili e sicure di quelle che attualmente possediamo. Egualmente dicasi riguardo la eliminazione per via intestinale. Quantità chimicamente dimostrabili di Bi si eliminano per pochi

giorni, ma la eliminazione di quantità minime, indosabili, deve protrarsi a lungo, poiché, come vedremo in seguito, la permanenza del bismuto nell'organismo è assai lunga, venendo eliminato molto lentamente.

Un fatto interessante, riscontrato ormai da chiunque abbia praticata la terapia bismutica, si é l'aumento della diuresi. FOURNIER e GUENOT (12) che fra i primi studiarono gli effetti della terapia bismutica nella sifilide, osservarono la poliuria da bismuto e ciò venne in seguito confermato da molti altri ed anche recentemente da HUDELO e RABUT (13). Il BLUM (14) ha studiato il meccanismo dell'azione diuretica da bismuto e dalle sue ricerche risulta che il Bi possiede proprietà diuretiche comparabili a quelle del mercurio per una azione diretta sulla cellula renale. L'aumento della secrezione urinaria è notevolissimo, ma la quantità di urea, eliminata durante il periodo della diuresi, é un poco inferiore alla normale, mentre è assai superiore quella dei cloruri.

Fino dalle prime esperienze eseguite con il bismuto colloidale somministrato a cani per via ipodermica, mi accorsi di un aumento abbastanza considerevole della quantità di urina eliminata durante le 24 ore. Ho creduto quindi opportuno rivolgere l'attenzione sopra tale fatto e studiare l'aumento della diuresi da bismuto in relazione con la eliminazione del metallo per la via renale. Anche in queste esperienze ho avuto cura di iniettare ipodermicamente quantità di bismuto colloidale tali da non portare alterazioni sul rene e quindi mi sono limitato a dosi di 2-3 cc. I cani scelti per le prove erano sani, e mantenuti per alcuni giorni a dieta costante di pane ed acqua. Da parecchie ricerche eseguite, e che mi hanno fornito sempre risultato eguale, posso trarre i seguenti dati di fatto. L'aumento della diuresi nel cane, per somministrazione ipodermica di Bi colloidale, si inizia dopo circa 12 ore ed è massimo nelle prime 24 ore, potendo talvolta raggiungere il doppio della quantità giornaliera di urina normalmente eliminata. In seguito, la quantità delle urine eliminate va diminuendo ed in pochi giorni ritorna al normale. La curva della diuresi va di pari passo con la curva dell'eliminazione del Bi per la via urinaria, ed infatti essa è massima nelle prime 24 ore quando cioè la reazione del Dezani ci pone in evidenza il massimo della quantità di Bi eliminata, ed allorquando la reazione del Dezani è negativa, possiamo asserire che il quantitativo delle urine eliminate è ritornato presso a poco al normale. Analogamente a quanto ha riscontrato il BLUM, ho notato aumento dei cloruri totali che da una media giornaliera di gr. 6,15 possono giungere a gr. 8,40 per poi ritornare al valore normale col cessare dell'azione diuretica. Anche l'eliminazione dei fosfati subisce un lieve aumento. Per quanto riguarda l'eliminazione dell'urea e dell'azoto totale delle 24 ore, le modificazioni non sono state ben nette, avendo avute oscillazioni in più od in meno di poca entità. Inutile dire che in queste esperienze

non ho tenuto conto di quei casi, invero rari, in cui la somministrazione del colloide di bismuto provocava una alterazione renale dimostrata da presenza di albumina nelle urine.

Si tratta certamente di una azione diuretica, simile a quella da mercurio, provocata dal bismuto durante la sua eliminazione per il rene, ed infatti al periodo di questa chimicamente dimostrabile, coincide il periodo della diuresi. Vedremo in seguito le modificazioni istologiche riscontrate sul rene. L'azione diuretica da bismuto si manifesta senza che avvengano modificazioni della pressione arteriosa, poichè ho potuto osservare, in esperienze a parte, che iniettando per via endovenosa a cani cc. 0,5-1 di bismuto colloidale per Kg. di animale non si hanno cambiamenti della pressione arteriosa secondo i dati dell'emocardiogramma raccolto dall'arteria carotide.

Azione tossica.

La ricerche farmacologiche sopra il Bi hanno stabilito che in generale tutti i sali di questo metallo sono abbastanza tossici. Se taluni di essi, come ad esempio il sottonitrato, somministrati per via orale, sono considerati come inoffensivi, ciò è dovuto al loro piccolissimo assorbimento da parte del tubo digerente venendo eliminati quasi completamente con le feci. Ma le cose vanno ben diversamente se i sali insolubili vengono introdotti per via sottocutanea o intramuscolare, poiché allora formano con i proteici delle combinazioni solubili, che essendo assorbite, determinano dei fatti tossici uguali a quelli prodotti dai sali solubili. Questi si riferiscono principalmente al tubo gastro-enterico e vanno dalla stomatite bismutica alla enterocolite che si manifesta con diarrea dissenteriforme. Anche il rene non resta indenne da lesioni, osservandosi albuminuria, cilindruria, ematuria. Il MAYER (15) che fra i primi ha studiato gli effetti tossici del Bi, usò nelle sue esperienze delle soluzioni debolmente alcaline di tartrato doppio di bismuto e sodio. Nelle rane, con forti dosi, ha veduto manifestarsi delle convulsioni da eccitamento del midollo allungato e spinale. Gli uccelli sono relativamente refrattari all'azione del bismuto. Nei mammiferi, in caso di avvelenamento acuto, ha notato da prima intensa dispnea, poi convulsioni energiche. Curarizzandoli, si hanno abbassamento della pressione arteriosa e diminuzione della frequenza del polso, progressivi fino alla morte, dovuti a paralisi del centro vasomotore ed a disturbi funzionali del cuore. Il centro vagale non appare influenzato. Nell'avvelamento cronico si cominciano ad osservare perdita dell'appetito, vomito, e diarrea come primi sintomi, poi anemia, diminuzione del peso, della temperatura rettale, stomatite, scialorrea, albuminuria. A ciò seguono disturbi della locomozione ed indebolimento della attività cardiaca mentre si mantiene integra la funzionalità del centro vasomotore, e l'animale muore per paralisi. In questo tipo

di avvelenamento, si osservano come alterazioni anatomo-patologiche, una pigmentazione nera del grosso intestino che attraversa l'intero spessore della mucosa di cui si nota sfaldamento. Il pigmento nero è costituito da granuli di solfuro di bismuto. Lesioni di poco conto nello stomaco e nell'intestino tenue; nel rene si ha necrosi degli epiteli dei tuboli contorti. Il bismuto viene eliminato dall'organismo per la via renale e per quella dell'intestino crasso, ed in quantità piccolissime dall'intestino tenue.

I risultati sperimentali del Mayer sono stati confermati dallo SCHMELZER (16) che ha usato per le sue ricerche un citrato di bismuto ammonio, osservando inoltre nell'avvelenamento acuto, emorragie gravi del tubo gastro-enterico. Anche nel cavo peritoneale sono stati osservati stravasi di sangue (17).

Le recenti e larghe applicazioni dei preparati bismutici nella terapia della sifilide, hanno subito dimostrato ai clinici la esattezza delle osservazioni tossicologiche descritte dai farmacologi ed infatti, uno dei primi disturbi osservati, é stata la stomatite da Bi simile a quella da mercurio e da piombo. Di poi l'attenzione é stata rivolta al rene ed il GRENET (18) crede che il Bi sia più nocivo per il rene del mercurio, e GOUGEROT (19), fra i tanti, afferma recentemente che prima di iniziare una cura bismutica è necessario esaminare il rene dell'individuo, sorvegliare in tali ammalati la funzione renale durante la cura, e sospendere il bismuto non appena si osservino fatti come diminuzione della quantità di urina, albuminuria, cilindruria.

Ho voluto studiare, anche dal punto di vista tossicologico, il comportamento del bismuto colloidale, potendo i risultati fornire dati interessanti riguardanti la sua intensità di azione, rispetto al contenuto in bismuto, essendo essa variabilissima da colloide a colloide e senza dubbio in rapporto al grado di dispersità e stabilità. Ho usato come animali da esperimento conigli e cani somministrando il bismuto colloidale per via sottocutanea in una prima serie, indi per via endovenosa. I risultati ottenuti sono poi stati paragonati a quelli di un sale solubile di Bi.

Nel coniglio, il bismuto colloidale iniettato nel sottocutaneo o nella vena marginale dell'orecchio, lentamente e con velocità omogenea, fino alla dose di gr. 0,02 di Bi per kg. di animale, non provoca disturbi apparenti nè immediati nè successivi. La funzione del tubo gastro-enterico e dell'apparato uropoietico non subisce modificazioni. I paragoni fatti mediante un sale di bismuto, il fosfato solubile di Bi, iniettato nella vena marginale dell'orecchio, non essendo possibile la via sottocutanea a causa del suo potere irritante e necrotizzante, hanno invece dimostrato che la stessa dose di gr. 0,02 di Bi provoca dopo 24 o 48 ore, disturbi funzionali sulle vie di eliminazione renale ed intestinale. L'animale perde temporaneamente l'appetito, nelle urine si rinviene presenza di albumina, e ciò che più é appariscente è

la diarreà, quando si pensi che per provocare, nel coniglio, tale disturbo occorrono lesioni intestinali non indifferenti. Col tempo, si ha in generale il ritorno delle funzioni normali.

Più interessanti sono stati i risultati ottenuti sperimentando sopra cani. In questi animali ho somministrato il Bi colloidale per via endovenosa, sempre avendo cura di di introdurre nella vena safena il preparato con lentezza e velocità costante. Dopo di ciò si sono tenuti i cani in osservazione. I risultati ottenuti si possono complessivamente riassumere nel seguente modo :

Dosi da gr. 0,005 a gr. 0,01 di Bi per Kg. di animale non hanno dimostrato avere alcuna influenza tossica nè subito dopo la somministrazione, nè successivamente. Le dosi un poco più elevate da gr. 0,01 a gr. 0,015 per kg. cominciano a fare risentire la loro azione nociva sul rene, osservandosi albuminuria di lieve entità ed affatto transitoria, tanto che dopo alcuni giorni la funzionalità del rene ritorna al normale. Con dosi più elevate da gr. 0,02 a gr. 0,03 per Kg. si osservano fatti tossici di una certa entità. Subito dopo l'iniezione si può osservare dispnea di breve durata, un certo grado di abbattimento generale che però non dura più di un'ora, indi l'animale ritorna in condizioni apparentemente normali. Nei giorni successivi si osserva albuminuria fino al 2 $^{0}/_{00}$ di albumina, quindi cilindruria ed anche lieve ematuria con diminuzione della quantità di urina giornaliera. A ciò si associa diarrea non intensa e disappetenza ; poi questi fatti gradatamente vanno diminuendo fino a cessare completamente. Elevando ancora la dose, ho osservato questi disturbi di maggiore entità, ma non ho avuta la morte dell'animale. Somministrando invece il bismuto per via endovenosa, non più allo stato di colloide, ma sotto forma di un sale solubile (fosfato solubile) allora il metallo alla dose di gr. 0,02 per Kg. di animale riesce quasi sempre mortale. La morte avviene generalmente dopo due o tre giorni e nel frattempo si può osservare una grave nefrite ed emissione di feci diarroiche e sanguinolenti. Alla necroscopia si può notare presenza di sangue nel cavo peritoneale, congestione di tutti gli organi, specie del fegato e della milza. Anche l'intestino è congesto con sfaldamento della mucosa del crasso. Il cuore è flaccido, ripieno di coaguli cruorosi. Il rene è aumentato di volume e il più delle volte mostra un colore giallastro ed al taglio una spiccata tumefazione torbida ed anche degenerazione grassa della sostanza corticale. Insomma tutti i fenomeni caratteristici dell'avvelenamento acuto da bismuto, quali sono stati osservati dal MAYER.

Risulta quindi che, per quanto riguarda il grado di tossicità, vi è una notevole differenza tra il bismuto allo stato colloidale ed i sali di bismuto. Però i sintomi, nel loro complesso, sono uguali per i due preparati. La diversità di intensità di azione è senza dubbio dipendente da fatto che nella unità di tempo la quantità di bismuto, libero, e quind

attivo, è diversa per i due preparati. Come vedremo nelle ulteriori ricerche, una parte del Bi colloidale muta di fase, per cui il Bi viene a mettersi in libertà con una certa lentezza, e vedremo pure come possa venire eliminato in fase granulare che certo non è attiva.

Ricerca del Bismuto nei vari tessuti.

Numerose ricerche cliniche, anatomo-patologiche e farmacologiche eseguite del 1921 ad oggi, hanno dimostrato che il bismuto, somministrato ad ammalati o ad animali da esperimento per via sottocutanea od endovenosa, si fissa nei diversi tessuti, nei quali lo si può mettere in evidenza con ricerche chimiche, come pure lo si può dimostrare nei diversi liquidi dell'organismo. I preparati di bismuto solubili, o che tali diventano dopo la introduzione nel tessuto sottocutaneo, si diffondono in tutto l'organismo ed è probabile che si fissino ai protoplasmi animali sotto forma di proteinato di bismuto, che poi lentamente si elimina specie per la via urinaria ed intestinale. I preparati colloidali di bismuto si comportano invece in modo alquanto diverso. Essi, almeno quelli studiati fino ad ora, iniettati sotto cute immediatamente flocculano dando poi luogo ad ammassi granulari che rimangono localizzati al luogo di iniezione e solo possono venire assorbiti col tempo man mano passano dalla fase granulare ad altre fasi che ne permettono la eliminazione (20). Se tali colloidi vengono introdotti ad animali per via endovenosa, mutano anche in tale caso di stato chimico-fisico assai rapidamente, passando dal colloidale a quello granulare amorfo, rimanendo fissi e per un tempo assai lungo nei tessuti, ivi trasportati dalla corrente sanguigna, dai quali poi, assai lentamente si eliminano, poichè dalla fase granulare solida passano ad altre fasi possibili di eliminazione. Ho creduto interessante studiare il comportamento nell'organismo, per quanto riguarda la sua distribuzione nei diversi tessuti, del bismuto colloidale da me preparato. Un colloide dotato di così grande stabilità, poichè non muta il suo stato appena introdotto nell'organismo, ed in caso solo parzialmente, deve giungere in contatto degli elementi cellulari ancora nella sua fase colloidale e può darsi che la sua distribuzione e fissazione nell'organismo sia alquanto diversa da quella di altri colloidi di bismuto poco o punto stabili e che vengono traportati dal torrente circolatorio già nella loro fase granulare.

Allo scopo ho introdotto a cani, per via endovenosa, il colloide diluito in acqua bidistillata in modo che ogni cc. contenesse gr. 0,005 di Bi metallico, ed ho scelta la via endovenosa a preferenza della sottocutanea perché per questa ultima la velocità di assorbimento può variare moltissimo per cause molteplici anche indipendentemente dalla stabilità del colloide. La introduzione del colloide è stata fatta servendomi di una buretta graduata posta in comunicazione con la

vena safena ed ho avuto cura che procedesse con velocità lenta e costante. La ricerca del Bi nei vari tessuti è stata fatta distruggendo la sostanza organica mediante calcinazione, riprendendo le ceneri con acido cloridrico e precipitando poi il bismuto con una corrente di idrogeno solforato. Ho creduto opportuno ricercare il bismuto nei tessuti per via chimica e non limitarmi alla sola osservazione microscopica dell'eventuale presenza di pigmento nero (fase granulare) poichè con questa ultima mi sarei fatto unicamente il concetto della quantità di colloide trasformato in fase granulare, e non avrei potuto rendermi ragione della presenza di Bi nei tessuti sotto altre forme non visibili microscopicamente. Circa la presenza di granulazioni nere in seno ai tessuti ne parlerò trattando delle ricerche istologiche.

In un cane del peso di 10 Kg. ho introdotto, a mezzo della vena safena, 100 cc. di bismuto colloidale pari a gr. 0,50 di Bi metallico. Dopo la iniezione che è durata 20 minuti, l'animale presenta una fase dispnoica non intensa e che dura circa un quarto d'ora e poi cessa completamente. Durante il giorno non presenta altri disturbi evidenti. Viene ucciso per dissanguamento dopo 24 ore ed alla necroscopia non si osservano macroscopicamente fatti interessanti ad eccezione dei polmoni che appaiono di un colore lievemente grigio specie al lobo superiore. La ricerca del bismuto ha dimostrato che nel polmone, fegato, muscolo striato, se ne trovano quantità che possono essere dosate; tracce indosabili si riscontrano nel rene, milza, intestino tenue, cuore; non mi è stato possibile dimostrarne chimicamente la presenza nel cervello, nel tessuto osseo e nel pancreas ove invece quantità piccolissime sono state svelate dalle ricerche istologiche. Nel mio caso ho potuto dosare nel polmone mmg. 43, nel fegato mmg. 37, nel muscolo striato mmg. 29 di Bi metallico per ogni 100 grammi di tessuto.

E' chiaro che, per quanto riguarda la fissazione del bismuto colloidale da me preparato nei vari tessuti dell'organismo, esso si comporta in modo simile ai sali di bismuto comunemente usati in terapia. HIGGINS (21) ha svelato con ricerche microchimiche la presenza di bismuto nel fegato, milza, intestino, reni; ed HUDELO e RABUT (22) riportano che secondo ricerche di RABUTEAU, DALCHÉ et VILLEJEAN, BALZER ed altri, è stato accertato che il bismuto è dimostrabile nel cervello, cervelletto, bulbo, midollo, liquido cefalo-rachidiano, sangue, cuore, polmoni, milza, fegato. Anche LEMAY e JALOUSTRE (23) hanno dimostrato nell'uomo che il bismuto viene trattenuto dal cervello, ove lo si può mettere in evidenza perfino alcuni giorni dopo l'ultima somministrazione.

Interessante è per i clinici il passaggio del bismuto nel liquido cefalo-rachidiano. FOURNIER e GUENOT (24) per primi dimostrarono presenza di bismuto nel liquor di individui sottoposti a cura bismutica e così pure il MÜLLER (25), somministrando trepol alle comuni dosi

terapeutiche, ha riscontrato presenza di bismuto nel liquido cefalo-rachidiano. Ma ricerche di altri sperimentatori, eseguite di recente con i metodi più sensibili per svelare minime quantità di bismuto, non confermano il passaggio del bismuto nel liquor. JEANSELME, DELALANDE e TERRIS (26), usando il metodo di Léger modificato da Aubry, non sono riusciti mai a svelare il bismuto nel liquido cefalo-rachidiano di numerosi infermi trattati con i più svariati preparati di bismuto iniettati per via intramuscolare e via endovenosa e tale risultato é stato confermato dalle ricerche di SEZARY, BARBÉ e POMARET (27) e da quelle di OLMER, ARNOUX e MASSET (28), dell'AMODEI (29) che non hanno trovato bismuto nel liquor umano dopo somministrazione di methanol e di citrato di bismuto. Invece il Genoese (30) nelle sue ricerche sulla bismutoterapia nella eredolue, ha potuto dimostrare che le meningi sono permeabili al bismuto, svelandone tracce, nel liquido cefalo-rachidiano, mediante la reazione del GANASSINI. Ho creduto pertanto ricercare il bismuto nel liquor dopo somminis trazione di bismuto colloidale, sebbene mi sia stata negativa la ricerca nel tessuto nervoso come sopra ho esposto. A tale scopo ho scelto un grosso cane di 16 kg. e ad esso per cinque giorni ho iniettato sotto cute 5cc. di colloide pari a gr. 0,05 di Bi pro die. Il sesto e settimo giorno la stessa somministrazione é stata fatta per via della vena giugulare, e quindi, cinque ore dopo l'ultima iniezione, ho posto l'animale sopra un apparecchio di contenzione ed ho introdotto un comune ago da siringa negli spazi sottoaracnoidei dopo avere inciso la cute, gli strati muscolari e fatta una piccola breccia sulla lamina vertebrale. Ho raccolto il liquor che defluiva a gocce dall'agocannula nella quantità di 6 cc. ed in esso ho eseguita la reazione del Dezani che però mi ha dato risultato negativo. Quindi con il bismuto colloidale da me usato, non si riscontra presenza di bismuto nel liquido cefalo-rachidiano, oppure esso si trova in quantità così esigua da non essere dimostrabile con il sensibile metodo usato.

Per quanto riguarda la presenza del Bi nei diversi tessuti, appare come esso si trovi presente particolarmente nel polmone, in cui si fissa in gran parte allo stato granulare, tanto è vero che riesce a mutare il colorito normale roseo di tale organo. Inoltre provoca disturbi, sebbene passeggeri, a carico della funzione respiratoria, cosa del resto riscontrata da altri con iniezioni endovenose di metalli colloidali poco stabili. A differenza di quanto ha osservato BARBIROLLI con il suo solfuro di bismuto colloidale, nelle mie ricerche, l'iniezione endovenosa del colloide non ha apportato mutamento nel colorito (nero) dei diversi organi, ad eccezione per il polmone, fatto questo che sta a provare come il passaggio del colloide a fase granulare non avvenga in massa, ma solo per una quantità assai piccola.

Modificazioni istologiche riscontrate nei tessuti.

Il Barbirolli, nelle sue interessanti ricerche, riferisce come l'esame istologico degli organi dimostri che in breve tempo, circa un'ora, il solfuro di bismuto colloidale iniettato in circolo, passa da fase colloidale a fase granulare solida ed in forte quantità, al punto da aversi un colorito nero dei tessuti. Gli elementi ad azione fagocitaria sono quelli che in prevalenza fissano i granuli e cioè le cellule di Kupffer, le cellule della polpa splenica, quelle del glomerulo di Malpighi, le cellule epiteliali degli alveoli polmonari e quelle endoteliali dei capillari, pur tuttavia granuli possono anche ritrovarsi nelle cellule epiteliali dei canalicoli contorti e retti del rene, ed in talune cellule epatiche, ciò che starebbe a provare una precipitazione endocellulare del colloide.

Dato che il colloide da me usato, come già ho precedentemente esposto, qualora venga iniettato nel sottocutaneo non passa allo stato granulare altro che in piccolissima parte, venendo ben presto assorbito, così nelle ricerche che ora esporrò ho somministrato il colloide sempre per via sottocutanea. Ho usato dei cani di media taglia somministrando loro per via sottocutanea il bismuto colloidale alla dose giornaliera di 3-5 cc. per una durata variabile da otto a dodici giorni e sacrificando poi l'animale mediante puntura del bulbo, ventiquattro ore dopo l'ultima iniezione, oppure dopo otto giorni, vale a dire quando nelle urine per ripetute volte non riuscivo più a mettere in evidenza il Bi col metodo di Dezani. Il pezzi prelevati venivano fissati parte in soluzione di formalina al 10 % e parte in liquido di Zencker ; le sezioni ottenute sono state colorate in vari modi, con emallume ed eosina, ematossilina e verde Giano, emallume Mayer e rosso Congo ed infine con van Gieson. Riporto i risultati ottenuti.

Polmone. Nei preparati di animali uccisi poco dopo le iniezioni di Bi colloidale, si nota il connettivo fortemente iperplastico ; grossi macrofagi sovraccarichi di pigmento e pigmento a zolle entro gli spazi linfatici del tessuto connettivo vecchio e di neoformazione. Nel lume di parecchi bronchioli, gruppi di cellule epiteliali con il protoplasma sovraccarico di pigmenti distaccati e liberi entro il lume. Simili aspetti si rivedono nel lume di grossi bronchi, commisti però a leucociti polinucleati similmente sovraccarichi di pigmento. Importante a notarsi é l'assenza di fatti infiammatori sia entro il lume alveolare che in quello dei bronchi. Al contrario si notano fatti di iperplasia connettivale specie là ove si é soffermata maggiore quantità di pigmento. La iperplasia connettivale dei setti interalveolari é a detrimento del calibro del capillare respiratorio che rimane con il lume ristretto.

Dopo alcuni giorni dall'ultima somministrazione del colloide, il quantitativo di pigmento diminuisce, e ne rimane ancora nel connettivo peribronchiale, Lo spessore del setto interalveolare non ritorna

al normale ed il lume dell'alveolo rimane alquanto ristretto ed in alcuni punti nodali di confluenza di parecchi alveoli, si costituisce un nodulo cicatriziale entro il quale permane piccola quantità di pigmento nero. Vi é tendenza a formare cirrosi.

Fegato. — Nei grossi vasi l'endotelio si mostra leggermente rigonfio con il lume dilatato ; tra i corpuscoli rossi, i quali hanno perduto parte della proprietà di assumere il colore acido, ma conservano la forma normale, vi é un pigmento nero, sottilissimo, in grani e zolle informi. Si notano pure leucociti polinucleati sovraccarichi di pigmento nero. Nel connettivo perivascolare avventiziale, gli elementi fissi del connettivo si mostrano in attiva proliferazione *senza presenza di linfociti*. Nei capillari intertrabecolari, l'endotelio (cellule di Kupffer) é ipertrofico senza contenere pigmento nero. La cellula epatica, nella maggior parte dei lobuli, é normale ; ma in zone limitate, specie nella zona media dell'acino, gruppi di cellule secernenti restano tinte in giallo dalla bile rimasta. Il nucleo é rattrappito e dislocato alla periferia, ed il protoplasma é microvacuolizzato assumendo l'aspetto di una spugna. Allorché gruppi di elementi sono presi in codesto fenomeno regressivo, c'é la scomparsa di essi e la sostituzione con elementi connettivali per iperplasia di quelli fissi della località e si giunge all'inizio dell'integrazione di tessuto cicatriziale. Laddove la chiazza nello stato suddetto é relativamente vasta, entro gli spazi linfatici del connettivo neoformato si osserva qualche volta il pigmento, nero a granuli sottilissini, contenuto entro una cellula plasmatica. Nei capillari biliari nulla di speciale. In secondo tempo, cioé dopo alcuni giorni dalla ultima somministrazione del colloide, la cellula epatica ritorna ad assumere la normale funzione, ma il connettivo di neoformazione tende alla stabilizzazione e si sclerotizza.

Rene. — In primo tempo si nota che il pigmento nero a granuli finissimi si fissa e si elimina entro il protoplasma dell'epitelio dei tuboli contorti alla stessa guisa dei colori vitali e cioé come secrezione. Nel glomerulo, l'epitelio della capsula si mostra normale, l'endotelio vascolare lievemente ipertrofico. In seguito, rimanendo immutata la parte funzionale del rene, nei tuboli contorti e nei glomeruli non si osservano granuli neri.

Intestino tenue. — Si osservano macrofagi nella muscolare e nel connettivo della sottomucosa carichi di pigmento nero. Anche nei follicoli solitari sono contenuti scarsi elementi leucocitari con contenuto nero nel protoplasma. Nulla nell'epitelio di rivestimento ed epitelio ghiandolare. Si riscontrano numerose cellule dell'epitelio ghiandolare in cariocinesi.

Intestino crasso. — Nel connettivo della sottomucosa si nota pigmento nero in maggiore quantità che nel tenue, spesso anche libero. Fagociti che hanno inglobato il pigmento, passano, per diapedesi nello spazio intercellulare dell'epitelio e compaiono nel lume intesti-

nale venendo inclusi nel muco di secrezione. Spesso il fagocita subisce un processo di disfacimento, perchè il pigmento libero, a guisa di piccole zolle informi, viene ad essere commisto al muco.

Per quanto riguarda l'intestino in genere, non vi sono differenze apprezzabili nei vari preparati ottenuti da animali uccisi poco dopo le somministrazioni di bismuto colloidale, o dopo qualche tempo.

Stomaco. – L'elemento ghiandolare é normale. Nel connettivo sottomucoso e nel connettivo dello strato ghiandolare, si osserva qualche leucocito carico di pigmento nero.

Capsule surrenali. – Nel parenchima nulla di anormale. Nella vena centrale, addossate alle pareti, si notano piccole quantità di finissimi granuli neri che col tempo vanno diminuendo.

Parotide. – Nel connettivo interstiziale si osservano granuli neri finissimi che lentamento passano, trasportati dai leucociti, nel lume dell'acino e di poi, come granuli liberi, nel lume del dotto escretore.

Pancreas – Nel pancreas non si osserva nulla di notevole.

Cuore. – Nell'interno dei capillari sanguigni, addossato alle pareti, si riscontra pigmento nero, e così pure se ne trova, in forma di granuli finissimi, negli spazi intercellulari e se ne trova anche depositato sul perimisio. La cellula miocardica é normale.

Milza. – In primo tempo si riscontra nella milza qualche leucocito contenente pigmento nero, ma poi scompaiono e si nota solamente lieve iperplasia del corpuscolo di Malpighi, nulla nelle travate della milza rossa, qualche rara raccolta di emosiderina in grossi macrofagi.

Tiroide. – Gli elementi ghiandolari si presentano normali. Nella sostanza colloide che é contenuta in varia quantità nei follicoli, si riscontra nel centro, un conglomerato uniforme di finissima sostanza granulare nera. Essa giunge entro la sostanza colloide attraverso le vie linfatiche trasportata dai leucociti, i quali penetrano attraverso lo spazio intercellulare entro il lume del follicolo, ove, in seguito al loro disfacimento, si libera unendosi alla sostanza colloidale in forma granulare estremamente fina, raccogliendosi verso il centro ed ivi permanendo per molto tempo.

Cervello, cervelletto e midollo spinale. – Nulla si osserva di notevole in questi organi, ad eccezione di rare e finissime granulazioni nere.

Ghiandole linfatiche. – In un primo tempo si notano finissimi ammassi granulari nell'interno dei globuli bianchi, ed ammassi più grossolani aderenti alle pareti degli spazi linfatici. Col tempo tali granulazioni nere vanno scomparendo. Null'altro di notevole.

Midollo osseo. – Nel midollo delle ossa lunghe (femore) si nota solamente qualche cellula propria della polpa contenente amassi granulari neri, che non si rinvengono più a distanza di alcuni giorni.

Dal complesso l'esame istologico dei tessuti, sta ancora una volta a dimostrare la grande stabilità del preparato colloidale studiato. Infatti, esso, iniettato nel sottocutaneo viene assorbito e solo una parte minima viene a localizzarsi, per un tempo relativamente breve, allo stato granulare amorfo in seno ai tessuti. Alcuni di questi meritano una speciale menzione anche per le lesioni anatomo-patologiche che in essi vengono a manifestarsi e che certo non sono, prive di importanza. Nel polmone viene a localizzarsi la maggiore quantità di Bi allo stato granulare ed in modo particolare nella zona degli apici, ma però mai essa é paragonabile alla quantità tanto elevata che si riscontra avvenire con colloidi a scarso grado di stabilità iniettati per via endovenosa. Importanti a notarsi sono i fatti di iperplasia connettivale, specie dei setti interalveolari, prodotti dal metallo allo stato di granuli, che col tempo possono dar luogo a veri noduli cicatriziali con tendenza a sclerosi. Anche nel fegato si notano fatti importanti. La quantità di pigmento nero é piccola, localizzata particolarmente nell'interno dei vasi o fagocitata dai leucociti polinucleati, ma ciò che più interessa sono le lesioni anatomo- patologiche che in questo caso sono senza dubbio dovute all'azione del Bi indipendentemente dalla fase in cui viene a trovarsi. Difatti le cellule di Kupffer si mostrano ipertrofiche senza contenere granulazioni nere del metallo ; gli elementi fissi del connettivo perivascolare avventiziale si mostrano in attiva proliferazione senza presenza di linfociti. Si notano anche fenomeni regressivi di gruppi di cellule epatiche, fino alla loro scomparsa, con sostituzione di connettivo che col tempo tende a sclerotizzarsi e quindi a formare cirrosi.

L'esame del rene, dell'intestino ed anche delle ghiandole salivari, hanno posto in evidenza il meccanismo di eliminazione del Bi colloidale passato alla fase granulare amorfa. Infatti nel rene si nota che il pigmento nero, sempre presente in quantità scarsa, sotto forma di finissimi granuli, si fissa entro il protoplasma dell'epitelio dei tuboli contorti e si elimina allo stesso modo dei colori detti vitali,cioé come secrezione e senza lasciare alterazioni anatomo-patologiche nell'organo. Le lesioni riscontrate per dosi tossiche sono dovute al Bi, indipentemente dalla fase granulare, per azione del metallo sugli elementi funzionali dell'organo.

Interessante é il modo di eliminazione attraverso la mucosa intestinale particolarmente del crasso. Il pigmento nero si trova nel connettivo della sottomucosa più abbondantemente nel crasso che nel tenue. Sono i fagociti che sovraccarichi di bismuto allo stato granulare, passando per diapedesi nello spazio intercellulare dell'epitelio, compaiono nel lume intestinale misti al muco, ed ivi subendo un processo di disfacimento, lasciano libero il pigmento che avevano fagocitato e che in tal modo viene a trovarsi nel contenuto intestinale.

Con uguale meccanismo si elimina il bismuto allo stato granulare mediante la saliva.

In questi organi di eliminazione, date le dosi usate, non si sono riscontrate apprezzabili lesioni anatomo-patologiche. Il Bi allo stato colloidale ed eventualmente in forma chimica solubile, deve venire eliminato dall'intestino, dalle ghiandole salivari e dal rene con meccanismo diverso da quello riscontrato per la fase granulare. Nella tiroide il pigmento, sotto forma di granuli estremamente fini, viene ad accumularsi nel centro del follicolo, immerso nella sostanza colloide. Quivi giunge attraverso le vie linfatiche trasportatovi dai leucociti, e vi permane per lungo tempo. Sarebbe interessante osservare la durata di permanenza del pigmento nella sostanza colloidale e sorprenderne il meccanismo di eliminazione, a meno che in seno alla colloide il Bi, da fase granulare passi col tempo ad altra fase (come é probabile) microscopicamente invisibile. Non è però inverosimile che il pigmento a grana finissima si elimini, assai lentamente insieme alla colloide, attraverso a quelle fessure pericellulari che sono state dimostrate con la reazione cromoargentica (31), e che da un lato si aprirebbero nella cavità vescicolare e dall'altro negli spazi linfatici perivescicolari.

Nella milza possiamo escludere il depositarsi nel parenchima splenico di pigmento nero, il quale si riscontra solo in un primo tempo contenuto in qualche leucocito. Come si vede, il pigmento dovuto al bismuto colloidale passato a fase granulare, si comporta in modo assai diverso, da quello di altri pigmenti, ad esempio di origine ematica (melanina) che si fissano durevolmente nel tessuto splenico. Potrebbe darsi però che questa differenza di comportamento fosse solo apparente, perchè il pigmento di origine ematica é definitivo e stabile, mentre il pigmento dovuto al passaggio di un metallo da fase colloidale a fase granulare può essere non stabile, passando esso a fase solubile o ad ogni modo microscopicamente invisibile.

Negli altri tessuti non si sono riscontrati fatti importanti ad eccezione di presenza, sempre assai scarsa, di fini granulazioni nere che scompaiono dopo alcuni giorni.

CONCLUSIONI.

Dal complesso delle ricerche farmacologiche eseguite sul bismuto allo stato colloidale preparato da me con il metodo sopra accennato, risulta anzitutto che, tanto con ricerche chimico-fisiche come da esperienze biologiche, tale colloide metallico ha dimostrato possedere un alto grado di *stabilità* quale é difficile riscontrare in altri preparati colloidali del genere. Data questa sua proprietà, ne consegue che il comportamento nell'organismo é alquanto diverso da quello osservato e studiato per altri colloidi di bismuto che con la massima facilità passano a fase granulare insolubile. E quindi, a differenza di quanto avviene per questi ultimi, il bismuto colloidale da me preparato viene assor-

bito dall'intestino e dal tessuto sottocutaneo in modo rapido e quasi completo diffondendosi in tutto l'organismo, alla stessa guisa di un preparato solubile, ed ivi, solo in quantità assai piccole passa a fase granulare, come ha potuto mettere in evidenza l'esame istologico dei diversi tessuti in cui i finissimi granuli di bismuto sono stati riscontrati in quantità esigua. Riguardo la sua distribuzione nei diversi tessuti dell' organismo, essa non differisce da quelle che altri autori hanno riscontrata avvenire con sali di bismuto comunemente usati in terapia. Il suo passaggio alla fase granulare avviene solo parzialmente, e ciò lo dimostra la piccola quantità di granulazioni nere osservate in seno ai tessuti, e per di più esso deve essere assai lento perchè se ciò non fosse si dovrebbe trovare unaparte cospicua di granulazioni nere nel punto di iniezione o nelle sue vicinanze ed accumulo di esse nella milza. Invece la distribuzione dello scarso pigmento nero avviene in tutti i tessuti, in alcuni in maggiore quantità, in altri meno, ma ciò che é interessante si é che nella milza non si nota quell'accumulo di pigmento che caratterizza l'entrata in circolo di altri pigmenti a carattere stabile. Potrebbe anche darsi che il colloide di bismuto passato a fase granulare, arrivando nella milza trovasse delle condizioni favorevoli alla rapida trasformazione dalla fase granulare in forma chimica solubile.

Importanti sono le lesioni riscontrate all'esame istologico del polmone e che differiscono notevolmente da quelle che si osservano per introduzione nell'organismo per via sanguigna, di colloidi poco stabili. Infatti, con questi, si ha accumulo di ammassi granulari nei capillari del polmone in modo da occluderne completamente il lume. Ne consegue infarto emorragico con svolgimento delle sue fasi successive. Invece nelle mie ricerche, pure essendosi notata presenza di pigmento nero nel polmone, (é l'organo che ne contiene di più) i fatti riscontrati sono principalmente a carico del connettivo dei setti interalveolari che diventa iperplastico in primo tempo, poi tende alla cirrosi.

Nel fegato, le modificazioni istologiche riscontrate, sono ben diverse da quelle descritte per azione di preparati colloidali di bismuto a scarso grado di stabilità. Mentre per questi ultimi la localizzazione della massa granulare amorfa avviene in massimo grado nelle cellule di Kupffer fino al punto da nasconderne il nucleo, con il colloide stabile di bismuto tali elementi cellulari si mostrano ipertrofici, ma non contengono pigmento nero che si trova solo, ed in piccola quantità, nel lume dei vasi ed entro gli spazi linfatici, fagocitato da leucociti polinucleati. Non si ha infiltrazione di elementi parvicellulari, ma attiva proliferazione degli elementi fissi del connettivo. Come è stato riscontrato avvenire per azione di composti solubili e dissociabili di bismuto, così anche con il bismuto colloidale stabile si possono osservare fatti regressivi a carico di gruppi di cellule epatiche che sono

destinati a scomparire e sostituiti con elementi connettivali e quindi con processi di cicatrizzazione.

Il bismuto colloidale da me preparato, passa adunque solo in piccola quantità a fase granulare ed anche questa parte, in tempo relativamente breve si trasforma in altra fase non essendone più visibile nei tessuti, oppure viene eliminata parzialmente dall'organismo sotto tale forma. Infatti l'esame istologico dell'intestino, del rene, delle ghiandole salivari, ha posto in evidenza il modo di eliminarsi della massa granulare amorfa. Per quanto riguarda l'eliminazione della fase granulare attraverso la mucosa dell'intestino tenue e crasso, essa si compie a mezzo dei fagociti, che sovraccarichi di granuli, passando per diapedesi nello spazio intercellulare dell'epitelio, compaiono nel lume intestinale ove lasciano il pigmento fagocitato a causa del loro disfacimento. Identico meccanismo di eliminazione si é osservato avvenire per la via salivare. Nel rene invece le cose avvengono in modo diverso, poiché i finissimi granuli neri che si riscontrano, sempre in scarsa quantità nel protoplasma dell'epitelio dei tuboli contorti, si eliminano come secrezione.

Quando in terapia si parla di metalli allo stato colloidale, sarebbe indispensabile almeno indicare il grado di stabilità del colloide, poichè il comportamento di un colloide minerale nell'organismo, varia secondo le sue condizioni chimicofisiche e di conseguenza diverse devono essere le azioni farmacodinamiche e quindi i risultati terapeutici. Mi sembra che ciò risulti chiaro da queste mie ricerche, le quali dimostrano quale differenza di modificazioni istologiche degli organi si riscontrino usando un metallo colloidale molto o poco stabile. Il metallo colloidale ad alto grado di stabilità, cui si associano alta dispersità e piccolezza dei granuli colloidali, viene assorbito come tale, e come tale si diffonde in tutti gli organi e probabilmente in parte si elimina dall'organismo allo stato colloidale, sebbene ciò non abbia ancora potuto dimostrarlo. Una piccola parte può passare in seno ai tessuti a fase granulare, non stabilmente però, in quanto che dopo un tempo non molto lungo, passando ad altra fase solubile, o in parte come tale, viene a scomparire dall'organismo. E potrebbe darsi che le piccolissime quantità di metallo libero, man mano provenienti dalla fase granulare, fossero quelle che, rimanendo a lungo in contatto con agenti infettivi, determinano i benefici effetti che si avverano nella terapia di processi morbosi anche con l'uso di metalli colloidali a scarso grado di stabilità.

———

BIBLIOGRAFIA.

1. C. Ducrey : Sulla cura della sifilide col bismuto. *Il Policlinico. Sez. prat.* Vol. XXIX ; 914 ; 1922.
2. E. Meneghetti : Influenza del colloide protettore sulla azione farmacologica dei colloidi minerali. *Giorn. di Biol. e Med. sper.* I ; 294 ; 1924.
3. R. Zsigmondy : *Kolloidchemie.* III Aufl. Leipzig. 1920.
4. C. Foà e A. Aggazzotti : Ueber die physiologische Wirkung kolloidaler Metalle. *Biochem. Zeitschr.* XIX ; I ; 1919.
5. W. Ostwald : *Manipulations de chimie colloïdale.* Gauthier-Villars, 1924.
6. H. C. Jones : *Trattato di chimica-fisica.* pg. 304 ; Hoepli, 1923.
7. F. Choucroun : Electrisation d'adsorption. Colloïdes et membranes. *Journal de chimie-physique.* XX ; 352 ; 1923.
8. R. Luzzatto. Intorno al contegno nell'organismo animale del collargolo e di alcuni sali di argento colloïdali. *Arch. di Farm. e Terap.* XIV ; I ; 1908.
9. A. Barbirolli. Azione farmacologica del solfuro di bismuto colloïdale. *Atti Soc. Med. Chir. di Padova.* 14 marzo 1924.
10. S. Dezani. Su un metodo rapido e sensibile di ricerca del bismuto nelle urine. *Biochim. e Terap. Sper.* IX; 267 ; 1922.
11. H. Mueller, Blass, Kratzeisen : Experimentelles, mikroskopisches und klinisches zur Wismutbehandlung bei Syphilis *Münch Med. Wochen.* N°. 20 ; 625 ; 1923.
12. Fournier et Guenot. *Compt. Rendus de l'Ac. des Sciences.* 17 oct. 1921.
13. Hudelo et Rabut. Incidents et accidents de la bismuthotherapie dans la traitement de la syphilis. *La Presse Médicale.* N° 29 ; 312 ; 1924.
14. L. Blum : L'action diurétique du bismuth ; mécanisme de cette action. *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.* 88 ; 461 ; 1923.
15. J. Biberfeld : Ergebnisse der experimentellen Toxikologie. *Erg. der Physiol.* XII ; 59 ; 1912.
16. W. Schmelzer : Studien ueber den pathol. anat. Befund bei den Wismutvergiftung. *Diss. Dorpart,* 1896.
17. R. Heinz : *Exper. Pathol. und Pharmak.* Bd. II ; 221 ; 1906.
18. Grenet : *Progrès médical.* 1923.
19. H. Gougerot.: Bismuthothérapie. Indications et contre-indications. *Journal des Praticiens.* XXXVII ; 257 ; 1923.
20. A. Barbirolli : *l. c.*
21. Higgins : *Journal of Amer. med. Assoc.* 26 feb. 1916.
22. Hudelo et Rabut. *l. c.*
23. Lemay et Jaloustre : Fixation du bismuth par le cerveau. *Compt. Rend. de la Soc. de Biol.* 88 ; 474 ; 1923.

24. FOURNIER et GUENOT : *l. c.*
25. E. MUELLER : Wismuth als Antisyphiliticum. *Klinische Wochenschrift.* Bd. I ; 1188 ; 1922.
26. E. JEANSELME, M. DELALANDE et TERRIS : Le bismuth injecté dans les muscles ou dans les veines passe-t-il dans le liquide céphalo-rachidien ? *La Presse Médicale.* N° 23 ; 245 ; 1924.
27. SEZARY, BARBÉ et POMAERT : *Bull. de la Soc. méd. des Hôp. d Paris.* 28 mars, 1924.
28. D. OLMER, A. ARNOUX, M. MASSOT. Note sur le passage du bismuth dans le liquide céphalorachidien. *Compt. Ren. de la Soc. de Biol.* XCI ; 310 ; 1924.
29. P. AMODEI. Ricerca del Bi nel liquido cefalo- rachidiano. *La mod. cult. Med.* N° 17 ; 15 sett. 1924.
30. G. GENOESE : Sulla permeabilità meningea al bismuto. *Rinascenza medica.* I ; N° 21 ; 1924.
31. F. LIVINI : Ricordi anatomici ed embriologici intorno agli organi a secrezione interna. *Ist. Sieroter. Mil.* 1922.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA SPERIMENTALE
DELLA R. U. DI MESSINA.
(DIRETTORE : G. VINCI.)

SULLA DIFFUSIONE DEI FARMACI.

(Contributo alla conoscenza del meccanismo intimo di diffusione del farmaci)

LUIGI TOCCO-TOCCO.

INTRODUZIONE.

E' noto da tempo, per osservazioni fatte e tenute in conto da autorevoli ed illustri sperimentatori, che sostanze iniettate in organismi, morti o privati della circolazione, possono nel primo caso essere dimostrate in posti lontani dal punto di iniezione, nel secondo caso esplicare azione su organi lontani.

Questo fenomeno, che consisterebbe, in ultima analisi e semplicemente, nella penetrazione di un liquido (soluzione) nell'interno di un solido (corpo animale), trova la sua prima base in una esperienza di MAGENDIE (1). Questo autore, isolata e piegata ad ansa una vena, la faceva pescare in un recipiente contenente acqua acidulata. Facendo circolare acqua da una estremità, vide ben presto l'acqua che usciva dall'altra estremità presentare reazione acida alla carta di tornasole.

Fenomeni molto vicino a questo furono osservati in seguito nei tessuti viventi.

Così STILLING (2) e H. MILNE-EDWARDS (1), hanno potuto dimostrare nelle rane (il primo asportando tutti gli organi interni cuore compreso ; il secondo legando i vasi sanguigni attorno al cuore) che iniettando soluzione di stricnina sotto la pelle di un arto posteriore si producevano, non dopo poco tempo come accade nell'animale normale, ma dopo un'ora circa, le convulsioni tipiche di questo farmaco.

In queste ricerche, non essendovi circolazione alcuna nell'animale da esperimento, la soluzione di stricnina ha dovuto progredire lentamente ed arrivare dall'estremità della zampa al midollo spinale in

modo diverso (imbibizione-diffusione) di quello che avviene nell'assorbimento normale.

Lo stesso accade nelle esperienze di BEKER (2) criticate da C. BERNARD.

Ritrovare nell'urina una soluzione di glucosio iniettata in un'ansa intestinale legata, si può riprodurre, cogli stessi risultati, pure nell'animale morto. Anche in questo caso dunque non assorbimento ed eliminazione del glucosio per i reni come voleva BEKER ma fenomeni completamente differenti di carattere certamente fisico.

Così pure verissimo è il fatto osservato da Moureau che introducendo del solfato di rame in sostanza sotto la pelle di una rana, i tessuti viciniori subiscono presto l'azione di questa sostanza, ma errava, come giustamente fa notare Vulpian, quando riteneva che questo sale fosse un veleno cardiaco. L'arresto del cuore si ha in primo tempo solo quando il solfato di rame in sostanza è introdotto sotto la pelle del dorso delle rane, mentre introducendolo sotto la pelle di una zampa posteriore lo stesso fatto non si verifica. La rana resta viva e vivace mentre solo l'arto a contatto col sale si mostra verdastro e cadaverizzato.

Rapidamente, pure negli animali morti, si diffondono per i linfatici, e si riscontrano in posti molto lontani dal luogo dove furono iniettate, le sostanze solubili. Così FODERÀ (3) ha potuto riscontrare la presenza di determinati farmaci, dopo tempo brevissimo dall'iniezione in punti lontani, nella linfa fluente, dopo la morte, dal dotto toracico.

Da quanto ho sin qui esposto risulta dunque che le sostanze introdotte in un punto qualunque del corpo non restano inerti nel posto ma si diffondono tutto attorno.

Se questo avviene in organismi morti o privati della circolazione dobbiamo ora chiederci se, a maggior ragione, non avvenga lo stesso anche negli organismi viventi e ciò senza o prima che i farmaci siano penetrati in circolo.

Che i farmaci iniettati nell'organismo vivente si debbano diffondere ed esplicare, a distanza del punto dove sono stati iniettati e prima di un'azione generale, azioni rilevabili su organi ed apparati viciniori è presumibile dagli effetti osservati sin dal 1871 dagli oculisti in diverse malattie oculari in seguito alle iniezioni sottocutanee di stricnina alla tempia.

In seguito alle osservazioni cliniche di NAGEL gli oculisti praticano, in diverse affezioni del nervo ottico, iniezioni sottocutanee di piccolissime dosi di stricnina nella tempia. La stricnina produce nell'occhio normale corrispondente al lato iniettato aumento transitorio dell'acutezza visiva, ampliamento del campo visivo, ecc. Questi fatti compaiono già dopo due ore dall'iniezione, sono massime dopo cinque ore e persistono per tre giorni circa

Essi non si osservano se il farmaco viene dato per bocca o iniettato in punti lontani dall'occhio.

VINCI (2), per spiegare questa azione locale della stricnina, ha fatto tutta una serie di ricerche per dimostrare che sostanze solubili iniettate nella regione temporale, possono esercitare un'azione puramente locale nell'occhio corrispondente al lato delle iniezioni per semplice diffusione in esso e senza o prima che siano penetrati in circolo. Con le sue esperienze egli ha potuto dimostrare, nell'occhio corrispondente alla tempia dove praticava l'iniezione, la presenza di diverse sostanze solubili (come KI, salicilato di sodio, ferrocianuro di K) e prima che fosse possibile rintracciare queste sostanze stesse nell'altro occhio.

Perciò egli viene alla conclusione che è evidente che delle sostanze solubili iniettate sottocute nella regione temporale possono giungere all'occhio corrispondente al lato iniettato per un semplice fatto di diffusione, senza o prima che vi arrivino con la circolazione generale per l'avvenuto assorbimento, e ciò tanto più perchè si può ripetere il fenomeno negli animali morti.

Fenomeno simile, se non identico, fu constatato pure per le sostanze insolubili che non si mescolano coi liquidi organici.

Il passaggio in punti lontani dal posto d'iniezione, e financo nelle grandi cavità del corpo, di sostanze che non si sciolgono nei liquidi organici fu studiato da JUCKUFF (4). Egli vide che la paraffina ed il mercurio metallico, iniettati sotto la pelle ai diversi animali di laboratorio, raggiungono, diffondendosi attraverso il tessuto sottocutaneo, in un tempo variabile da tre giorni a due mesi e mezzo, la cavità toracica, addominale, le ossa, ecc. ; mentre una penetrazione nel corpo delle stesse sostanze iniettate nei linfatici non avviene che molto parzialmente e dopo mesi.

Da quanto ho sino quì brevemente esposto si deduce quanto sarebbbe importante considerare nello studio biologico di una sostanza, l'eventuale sua azione iniziale a distanza per diffusione dal luogo di applicazione in organi od apparati viciniori e ciò senza o prima che detta sostanza penetri in circolo.

Questo concetto terapeutico nell'idea generale, non è cosa del tutto nuovo giacchè è ormai ovvio il fatto clinico che molte sostanze riescono maggiormente utili se applicate localmente o quanto più da vicino interessano l'organo o la parte ammalata, anzi talvolta, se lontane, riescono inefficaci : Così l'utilità di applicare i mercuriali in prossimità dell'occhio fu conosciute dagli antichi i quali usarono in molte malattie oculari frizioni di unguento napoletano alla fronte o iniezioni di calomelano alla tempia (a parte l'azione irritante locale che può agire favorevolmente sull'affezione oculare per altro meccanismo che non è il caso di pigliare qui in considerazione) (Scarenzio, Quaglino) ; come i moderni sanno che l'azione locale di certi farmaci

è ben diversa dall'azione generale di essi (uso di colliri miotici o midriatici, ecc.).

Ma non dobbiamo confondere l'azione locale di un farmaco con l'azione per diffusione, essendo quest'ultima ben differente dalla prima e permettendo di utilizzare un'azione del farmaco che è diversa, o non si ha per assorbimento generale, o che è impossibile ottenere con applicazione locale.

Persuaso dell'importanza scientifica e pratica di questo argomento, che Vinci iniziò così bene nel 1902 dando per primo la prova provata della diffusione all'occhio di alcune sostanze iniettate alla tempia, io ne ho ripreso in questi ultimi tempi lo studio e in questa nota dimostro prima che un'azione iniziale per diffusione è comune a tutti i farmaci e si esplica sugli organi o apparati viciniori che hanno elettività di azione per questa sostanza, e ciò senza o prima che detta sostanza penetri in circolo ed avvenga l'assorbimento generale, in seguito tento di intravedere per quale intimo meccanismo avvenga la diffusione delle sostanze negli organismi animali viventi o morti.

Mi riservo poi di comunicare in una prossima nota i risultati delle ricerche tendenti a dimostrare le eventuali differenze che possono esistere tra l'azione che i farmaci esplicano sopra un determinato organo od apparato quando pervengono ad esso per diffusione da quando vi pervengono per l'assorbimento generale.

PARTE PRIMA.

Ho dovuto forzatamente, in questo campo di ricerche, limitare le esperienze perchè pochi sono gli organi o i sistemi che presentano reazioni biologiche evidenti e bene controllabili. Se si eccettuano l'occhio, le ghiandole salivari, il midollo spinale, l'organo del Kuhne, i restanti organi o sistemi non danno, coi farmaci che noi oggi possediamo, dei sintomi tali da potersi sfruttare in questo genere di ricerche. Nè ho potuto sopperire a questa deficienza, sperimentando sopra un determinato organo, col variare molto i farmaci usati, che ho dovuto contentarmi o di quei pochi che presentano azione opposta ben definita, come nel caso delle esperienze sull'occhio, o di un solo farmaco ad azione sicuramente dimostrativa, come nel caso delle esperienze sul midollo spinale e sull'organo del Kuhne.

Nelle esperienze sull'occhio, per studiare la diffusione in esso delle sostanze coloranti, ho seguito integralmente la tecnica usata da Vinci, per quelle cogli alcaloidi ho curato solo di iniettare le loro soluzioni più distante che fosse possibile dal margine orbitale.

Per le altre ricerche dirò caso per caso nei protocolli la tecnica seguita. Ricordo che non riporto integralmente i protocolli ma dò solo i risultati ottenuti.

Esperienze.

ESPERIENZA I. — Rane di peso medio 20-25 gr. Si isolano i due sciatici all'origine avendo cura di fare la più piccola breccia possibile sulla pelle. Si disarticolano gli arti inferiori, si lasciano dissanguare, si chiudono superiormente nella pelle legandoli a salsicciotto in modo che lo sciatico resti libero di fuori, e si sospendono con la zampa in giù a dei sostegni. Uno serve di controllo, nell'altro si inietta nella massa dell'estremità distale una piccola goccia di soluzione concentrata di curaro attivissimo. Ogni cinque primi si assaggia la reazione dei muscoli dei due arti stimolando lo sciatico corrispondente che si conserva in pezze imbevute di soluzione fisiologica. Dopo 35' i muscoli della zampa dell'arto curarizzato rispondono torpidi alla stimolazione elettrica del nervo. Dopo 40', anche aumentando la forza della corrente; non rispondono più. L'arto controllo reagisce sempre bene alla stimolazione elettrica dello sciatico.

ESPERIENZA II. — Cagnetti peso medio Kg. 5-6,500.

Si inietta, ora in corrispondenza della seconda-quarta lombare, ora in corrispondenza della terza-quarta dorsale, la metà della dose tossica letale (D.T.L. = Gr. 0.00075), corrispondente al loro peso, di una soluzione all'1 %₀ di nitrato di stricnina. L'iniezione viene praticata affondando l'ago per un centimetro ad un dito trasverso dalla linea vertebrale mediana nella massa dei muscoli dorsali.

Se dopo fatta la iniezione l'animale viene sorvegliato, abbandonandolo a se stesso, l'esperienza può riuscire o negativa o poco dimostrativa.

Se invece si ha cura di eccitare l'animale ogni 15"—30", con una chiamata, una minaccia, un batter di mano etc. l'esperienza riesce sempre evidentissima.

Se l'animale si sorveglia abbandonandolo a se stesso l'accesso convulsivo può iniziarsi al treno anteriore o posteriove, a seconda del punto dove fu fatta l'iniezione, ma tra l'insorgere delle convulsioni locali e le generali passa in genere un tempo brevissimo (10"—15") che può anche mancare o passare inosservato ; se invece si eccita tratto tratto il cane, l'esperienza si può seguire abbastanza a lungo.

Dopo 9'-11' dall'iniezione l'animale, eccitato, non domina più gli arti corrispondenti al punto dell'iniezione : si estendono in una contrazione tonica e per servirsene è obbligato a compiere con essi dei movimenti rotatori laterali. Per 2'-3' questa sintomatologia si rende sempre più evidente, spiccata e molto dimostrativa, sinchè, dopo 11'-13' dall'iniezione, per una nuova eccitazione, insorgono convulsioni clonico-toniche al treno corrispondente al punto dove fu fatta l'iniezione che dopo 30"-70" si generalizzano a tutto il corpo.

ESPERIENZA III. — In queste ricerche sulla diffusione dell'atropina nell'occhio ho usato piccoli gatti, perchè i cani e i conigli sono relativamente poco sensibili a questo alcaloide.

L'iniezione di ½-1 mgr. di soluzione al 0.5 % di solfato neutro di atropina era fatta nella tempia il più lontano possibile dall'orbita.

Prima di fare l'iniezione avevo cura di fissare in un modo qualunque la membrana nittitante che disturba molto l'osservazione

Subito fatta l'iniezione si dirige la faccia dell'animale verso una sorgente fortemente luminosa e si osservano contemporaneamente le due pupille. Esse sono fortemente miotiche ma dopo 2-'2',30" dall'iniezione si vede che la pupilla corrispondente alla tempia dove fu praticata l'iniezione tenta tratto tratto di allagarsi per restringersi subito dopo, in seguito, ad ogni nuovo movimento, diventa sempre più meno miotica e comincia ad allargarsi. Nell'occhio opposto invece la pupilla è sempre miotica. Dopo 30"-45" anche questa però comincia ad allargarsi e finalmente dopo 3'-4' dalla iniezione tutte e due le pupille sono fortemente midriatiche.

ESPERIENZA IV. — Cagnetti Kg. 5-6,500.

L'animale viene posto in posizione ventrale sull'apparecchio in modo che la testa sia fissa e facilmente maneggiabile. Si sonda, con canula di metallo adatta, il dotto di Stenone della ghiandola salivare corrispondente alla tempia dove si praticherà l'iniezione. L'iniezione, di cgr. 0.5-1 di cloridrato di pilocarpina all' 1 %, è fatta in una tempia in un punto il più lontano possibile dall'orbita. Dopo 3'-4' l'occhio corrispondente alla tempia dove fu praticata l'iniezione appare più irrorato dell'altro e dopo altri pochi secondi compare lagrimazione. In seguito, dopo 3', 30"-4', 30" dall'iniezione comincia a scorrere la saliva dalla sonda e quasi subito dopo compare lagrimazione all'altro occhio e salivazione abbondante delle altre ghiandole.

ESPERIENZA V. — Questo gruppo di ricerche fu praticato su artropodi e vermi con polvere di crisantemo, quassina, santonina. Non ne riporto i protocolli perchè identici a quelli che si trovano nei miei lavori (9) sull'azione del crisantemo e della quassina sugli artropodi e della santonina sugli artropodi e sui vermi.

In queste numerosissime e costanti esperienze si è potuto osservare che l'azione del farmaco si esplica dall'alto in basso (dal cingolo esofageo ai gangli dei cordoni ventrali) o dal basso in alto (dalla catena ganglionare ventrale al cingolo esofageo) a seconda del punto (sulla testa o sull'addome) dove il farmaco venne applicato.

ESPERIENZA VI. — In queste ricerche sulla diffusione delle sostanze coloranti (eosina, bleu di metilene) nell'occhio ho usato conigli di media taglia. L'iniezione di 0,2-0,3 cm^3 di soluzione di colore all'1 % fu praticata nella tempia in un punto il più lontano possibile dall'orbita. I colori si diffondono molto lentamente e progressivamente. Essi non compaiono sulla sclera che dopo 2—3 ore. Prima si presentano sotto forma di un alone che ricorda appena la sostanza colorante adoperata, poi aumentano sempre più di intensità. Nella sclera avanzano a forma di cuneo dall'esterno verso la cornea, la raggiungono e si fermano alla periferia diffondendo lentamente tutto attorno.

Dal complesso delle esperienze sopra riportate risulta che le sostanze solubili in esame, iniettate o sotto cute o nello spessore dei muscoli, possono giungere agli organi viciniori al punto d'iniezione, per un semplice fatto di diffusione e prima che vi arrivino con la circolazione generale per l'avvenuto assorbimento, ed ivi esplicare azione rivelabile dalla sintomatologia caratteristica che il farmaco determina su quel dato organo.

Generalizzando questo concetto noi possiamo per ora ritenere come probabile, in attesa che altri studi ci illuminino meglio, che ogni farmaco, senza o prima di pervenire all'assorbimento generale, si diffonde tutt'attorno al punto dove è stato iniettato e se trova organi o sistemi ricettivi esplica la sua azione.

Ho detto sopra : *senza o prima di pervenire all'assorbimento generale*, ma se bene consideriamo i fenomeni che si svolgono in seno ai tessuti, dopo che noi abbiamo apportato in essi una sostanza solubile estranea, vediamo che non è possibile una separazione netta delle diverse fasi che precedono e accompagnano l'assorbimento generale, ma che le une debbono essere funzioni delle altre e si rilevano a noi come unità solo per intensità maggiore di azione.

Così il fenomeno della diffusione dei farmaci esiste, sebbene allo stato rudimentario, già nell'azione che i farmaci esplicano quando sono applicati localmente. A rigore quando applichiamo localmente un farmaco noi lo mettiamo solo nel posto più vicino perchè esso possa esplicare la sua azione, ma perviene agli elementi anatomici unicamente per virtù propria di diffusione che nel caso particolare è minima perchè la distanza è minima.

Lo stesso avviene nell'assorbimento generale. Mano mano che il farmaco si diffonde attorno viene assorbito solo che il quantitativo in principio è minimo e tale da non potere asplicare l'azione generale. Come la superficie di diffusione aumenta, aumenta l'assorbimento, sino a che arriviamo al momento nel quale la quantità di farmaco circolante nel sangue è tale da potère esplicare la sua azione sopra gli organi lontani elettivi.

Questione di grado dunque che ci permette di distinguere una azione locale, da un'azione per diffusione, da un'azione generale.

E' questione di superficie e di spazio possiamo sin d'ora aggiungere.

Se il farmaco introdotto in seno ai tessuti vi permanesse senza diffondersi attorno, l'assorbimento generale accadrebbe solo con grande lentezza. Come si diffonde attorno aumenta la superficie e lo spazio nel quale può avvenire l'assorbimento generale.

Da ciò ne viene che un fenomeno è intimamente legato all'altro, anzi dev'essere funzione dell'altro. Ma se l'assorbimento generale di un farmaco è legato intimamente alla diffusione, e se questo fenomeno avviene anche nell'animale morto, a me pare che l'indagare su quali

fatti esso si basa debba avere grande importanza scientifica perchè può condurci alla conoscenza delle cause dalle quali esso trae origine.

Guidato da queste considerazioni ho fatto una serie di ricerche in proposito, che espongo nella seconda parte di questa nota.

Esse mi permettono di formulare delle ipotesi tali da poterci, sino ad un certo punto, fare intendere quali possano essere le cause che determinano e reggono la diffusione dei farmaci nell'organismo animale.

PARTE SECONDA.

Molte spiegazioni sono state date del fenomeno che c'interessa- Alcuni vi hanno voluto vedere l'effetto risultante tra le forze di coe. sione di molecole omogenee e le forze di attrazione di molecole eterogenee.

Altri hanno cercato spiegare l'imbibizione e l'adesione che si esercita tra molecole solide e molecole liquide, per il fatto che il liquido bagna il solido, come dipendenti da fenomeni di capillarità, ammettendo che la soluzione si diffonda attraverso gl'interstizii cellulari.

Vi è pure chi ha pensato a fenomeni chimici tra farmaco ed organo in quanto che penetrando il solvente nel corpo dovrebbe apportare in esso un cambiamento e quindi un'alterazione del resultante farmaco più organo; come pure si è ricorsi a pensare ad una proprietà dell'organismo : il corpo assumerebbe il farmaco in virtù della proprietà di poter sciogliere quella determinata sostanza.

Non spiegando però queste ultime teorie in effetti tutto il fenomeno si è cercato di conciliarle fra loro ammettendo che esso avvenga in parte per assorbimento meccanico, in parte per combinazioni chimiche tra soluzione e corpo.

Non è necessario spendere molte parole per dimostrare che queste teorie non sono accettabili. Non è facile comprendere come avvenga un equilibrio di forze tra coesione e attrazione, o come la capillarità eserciti la sua azione, così pure mi pare tautologia l'ammettere che il farmaco si diffonda in virtù della proprietà del corpo di scioglierlo.

Il fenomeno da noi studiato, come ho detto nella prima parte di questa nota, consiste in ultima analisi e semplicemente nella penetrazione di un liquido (soluzione) nell'interno di un solido (organismo).

Analizzando questo fenomeno e le circostanze nelle quali si produce riconosciamo subito in esso delle determinanti necessarie molto importanti. Il fenomeno osservato è un fenomeno di superficie nel quale abbiamo una sostanza disciolta (soluzione) che trovandosi in presenza di un solido fornito di una grande superficie di contatto lorganismo) vi penetra e vi si fissa. Questo potere di penetrazione del (iquido nel solido dipende tanto dal solido che dal liquido. Nel caso

del solido (organismo) noi abbiamo a che fare con un corpo di natura sicuramente colloidale nel quale universalmente si ammette una enorme superficie quantunque le micelle che lo costituiscono abbiano una loro individualità ed aggregazione nello spazio. Tuttavia le micelle, sebbene siano agglomerate in modo da formare un ammasso solido, lasciano fra di loro degli interstizi nei quali il liquido (soluzione) può insinuarsi e in tal modo diffondersi, profittando, oltre che della superficie esterna delle cellule che sarebbe insufficiente, anche della superficie micellare che è enormemente più grande. Noi non conosciamo ancora la natura intima di questo fenomeno e dicendo che è un'azione di superficie non constatiamo che uno dei fatti accessibili alla nostra osservazione.

E' probabile però che le micelle che formano l'organismo animale possiedano uno *stato* tipico, intendendo con questa parola l'insieme delle condizioni di ambiente che determinano lo stato della natura di quella micella, ma non sappiamo nè possiamo prevedere di quanto essa possa allontanarsi da queste condizioni senza aversi dei gravi perturbamenti sia che queste modificazioni che possono essere minime e in apparenza trascurabili, come per esempio l'abbassamento in temperatura si verifichino sopra tutto l'organismo sia che si verifichino sopra una parte di esso.

Tra le cause che possono determinare una modificazione dello stato micellare è quella dell'introduzione di una sostanza straniera nell'organismo, ed essa è tale che può agire a dosi estremamente piccole. Questo fatto avrà inoltre luogo se certe micelle dell'organismo hanno un potere elettivo per la sostanza introdotta, ad esclusione delle altre, e sarà tanto maggiore quanto maggiore sarà l'elettività per questa sostanza e la forza con la quale la trattengono.

Secondo il mio modo di vedere ritengo che il fenomeno della diffusione debba considerarsi come un vero e proprio fenomeno di natura colloidale.

La diffusione di un farmaco, ammesso che dipenda da un fenomeno di natura colloidale, sarebbe dovuto ad un semplice processo di adsorbimento operato dall'organismo sulla soluzione del farmaco, uguale a quello che avviene nelle soluzioni colloidali, sia tra colloidi e colloidi, sia tra cristalloidi e colloidi.

Le cellule dell'organismo poste a contatto con una soluzione avrebbero la proprietà di mettere in giuoco le loro forze d'attrazione costituite dall'energia di superficie ; queste forze, che si possono considerare come valenze, agirebbero sul farmaco avvicinandolo e trasportandolo nelle cellule stesse. Ora poichè il valore di queste forze varia da cellula a cellula, come varia da soluzione di farmaco a soluzione di farmaco, ne risulta evidente il diverso comportamento dei diversi organi. Il farmaco trovasi in soluzione e quindi esso è in combinazione più o meno stabile col solvente. Questa combinazione può essere più o

meno stabile di quella che si può avere tra cellule e soluzione. Se più stabile, il farmaco non sarà adsorbito o poco dalle cellule, se meno stabile avremo la diffusione del farmaco nell'organo. Ciò spiega perchè una soluzione di farmaco possa agire sopra un organo e non sopra un altro e perchè certi farmaci si assorbano altri no.

Se la mia ipotesi sul fenomeno della diffusione è giusta, e se cioè essa è dovuta a fenomeni di adsorbimento, ne dovrà derivare che allorquando si stabilizza una soluzione di farmaco mediante un emulsoide molto stabile il potere di diffusione di questa sostanza dovrà diminuire. Avverrà infatti un adsorbimento tra soluzione ed emulsoide stabilizzatore che portera alla formazione di un composto più stabile, perchè avente una maggiore affinità per il solvente, e da ciò ne verrà una più scarsa o più lenta diffusione tra il farmaco esistente in soluzione e le cellule poste a contatto di esso.

Infine se veramente la diffusione consiste in un vero e proprio adsorbimento dovremo verificare la regola dell'adsorbimento, cioè esso dovrà, entro certi limiti, essere una funzione positiva della concentrazione della sostanza adsorbibile e quindi la quantità di farmaco che si porterà sopra un organo ricettivo dovrà aumentare col crescere, della concentrazione di esso nel solvente.

Queste sono le considerazione che ho creduto di poter fare sul fenomeno della diffusione e per dimostrare se siano vere le ho comprovate con le esperienze che espongo in appresso nelle quali dimostro :

1° Che la quantità di farmaco, sciolta in una soluzione contenente emulsoidi stabilizzanti, che viene adsorbita da un organo ricettivo è minore, — e quindi vi esplica una sintomatologia più lenta, meno energica e più duratura, — di quella che lo stesso organo può adsorbire da soluzioni di farmaco prive di stabilizzanti.

2° Che la quantità di farmaco che si fissa con le cellule dell'organo ricettivo non è fissa ma varia, entro certo limiti, con la concentrazione del farmaco nel solvente.

PARTE SPERIMENTALE.

Esperienza I. — In queste ricerche ho usato cani di media taglia (Kg. 5-6,500). Ad alcuni animali controllo ho iniettato la metà della loro dose minima letale di stricnina in sol. all' 1 °/₀₀ sia in vicinanza della colonna vertebrale, con le stesse modalità che ho esposto nella prima di questa nota, sia sotto cute ed ho registrato accuratamente il decorso della sintomatologia dell'avvelenamento.

In altri animali poi ho iniettato, negli stessi punti e nelle stesse quantità, soluzione di nitrato di stricnina all' 1 °/₀₀ alla quale avevo aggiunto un emulsoide stabilizzante, (nel caso speciale scelsi la gelatina purissima marca oro) in proporzione dall'1 al 4 %, in altri ancora iniettava la dose stabilita di stricnina diluita variamente con solu-

zione di gelatina dell'l al 4 %. In tutti i casi feci numerose esperienze perchè gli animali non sono tutti ugualmente recettivi a questo farmaco e il decorso varia, sebbene di poco, dall'uno all'altro. Non riporto dettagliatamente i protocolli per non tediare il lettore con inutili ripetizioni ma do i risultati complessive delle ricerche.

In generale negli animali, ai quali la soluzione di stricnina fu iniettata sia nella massa dei muscoli dorsali sia sotto cute dopo aggiunta dell'emulsoide stabilizzante, i sintomi apparvero molto più tardi del normale, specie poi nel caso in cui il farmaco fu iniettato sotto cute, gli attacchi convulsivi furono molto meno violenti ma durarono più a lungo. Questa sintomatologia, ferma restando la dose del farmaco, è in ragione diretta sia con la concentrazione dell'emulsoide stabilizzante nella soluzione, sia con la quantità totale di emulsoide stabilizzante iniettato. Nel caso che le iniezioni (gelatina 1-4 %) si pratichino nello spessore dei muscoli dorsali i primi sintomi ritardono, rispetto ai controlli, di poco a comparire, ma l'intensità e la durata dell'attacco convulsivo è sempre minore. Dopo uno o più attacchi leggeri e di breve durata, l'animale si mantiene eccittabilissimo per molto tempo, anche due tre ore,e solo tratto tratto ha qualche piccolo accenno a convulsioni di breve durata che si risolvono subito e gli permettono di rimettersi in piedi. Se l'iniezione fu praticata lateralmente alle vertebre lombari è il treno posteriore che, dopo un certo tempo dalla iniezione, risponde a lungo e per delle ore ad ogni eccitazione, prima con contrazioni violente, poi con eccitabilità marcatissima mentre il treno anteriore è padroneggiato molto bene dall'animale.

Nel caso che l'iniezione fu fatta sotto cute (gelatina al 4 %) i primi sintomi possono insorgere anche un'ora dopo. Gli attacchi si ripetono prima tratto tratto, ma sono poco intensi e di breve durata, poi l'animale, per ogni piccolo stimolo, ha un brevissimo attacco convulsivo talvolta limitato a qualche scossa clonico-tonica, in seguito, e per due tre ore, l'animale è eccitabilissimo o scosso da qualche contrazione. Dopo tre ore dall'iniezione gli animali in genere si rimettono completamente. Questa sintomatologia è ancora più spiccata, e dura più a lungo, quanto più la soluzione di stricnina iniettata fu diluita con quantità più o meno grandi o concentrate (1-4 %) di soluzione di gelatina.

Queste ricerche confermano quelle di altri autori (5) che la presenza di emulsoidi stabilizzanti ritarda la diffusione e quindi l'assorbimento di un farmaco.

ESPERIENZA II. — In questa esperienza raggruppo numerose ricerche fatte o iniettando soluzioni di colore (eosina, ble di metilene, rosso congo) o soluzioni di acido salicilico o di ferrocianuro di potassio, a concentrazioni diverse per ciascuno di essi, sia nella tempia, sia sotto cute, in animali vivi o morti, e deducendo poi quale fosse

il quantitativo di colore o di farmaco sottratto dall'organismo, per i primi dall'intensità del colore, pei secondi dalla intensità della reazione colorata. Il complesso delle ricerche, che non riporto per amore di brevità, sono tutte concordanti : la quantità di colorante, o di sostanza, sottratta dall'organismo per diffusione in esso, è sempre funzione positiva della concentrazione delle soluzioni adoperate.

CONSIDERAZIONI.

Il gruppo delle prime esperienze dimostra che la diffusione del armaco e l'assorbimento consecutivo diminuisce con l'aumentare della percentuale dell'emulsoide stabilizzante ; infatti la sintomatologia dell'avvelenamento stricnico compara più tardi, è meno intensa, ma dura più a lungo, anche delle ore, del normale, quando alla soluzione di stricnina di aggiunge in proporzione varia gelatina.

Il secondo gruppo di esperienze dimostra chiaramente che la diffusione e la fissazione dei colori, o delle sostanze rilevabili con reazioni colorate, nei tessuti elettivi non avviene in quantità fisse ; di guisa che la combinazione colori o farmaci più sostanze colloidali dell'organismo non è un composto definito ma è una funzione positiva della concentrazione della sostanza (farmaco) adsorbibile e quindi la quantità di sostanza che si fissa nell'organo recettivo aumenta col crescere della concentrazione della sostanza nella soluzione iniettata.

Da quanto ho premesso, e dalle deduzioni che si possono trarre dal complesso dei risultati delle esperienze, mi sembra di potere essere autorizzato a propendere ad ammettere che la diffusione dei farmaci iniettati nell'organismo, può considerarsi per ora, in attesa che ulteriori ricerche ci illuminino meglio in proposito, come appartenente a quel semplice processo di natura colloidale, non ancora del tutto studiato e ben definito, che va sotto il nome di adsorbimento (meglio forse sarebbe dire *sorbimento*) e che nel caso speciale avviene tra colloidi dell'organismo e soluzioni di farmaco.

CONCLUSIONI.

Quanto ho sin quì esposto si può riassumere brevemente così :

1° Ogni farmaco solubile, senza o prima di pervenire all'assorbimento generale, si diffonde tutto attorno al punto dove è stato iniettato e se trova organi o sistemi recettivi esplica la sua azione.

2° La diffusione dei farmaci iniettati nell'organismo può considerarsi, in base alle considerazioni esposte nel corpo della nota, come un semplice processo colloidale di adsorbimento tra soluzione del farmaco e colloidi dell'organismo.

BIBIOGRAFIA.

1. E. GLEY: *Physiologie*, Paris, Baillière, 1918.
2. VINCI: *Arch. di Farmac. e Terap.*, X, 1902.
3. FODERÀ: *Arch. di Farmac. e Terapia*, XIII, 1907.
4. IUCKUFF: *Arch. f. exp. Path. u. Pharmak.*, XXXII, 1893.
5. SIMON: *Boll. Soc. Medica di Parma*, I, 1908.
6. DUCLAUX: *Les colloïdes*, Paris, Gauthier-Villars, 1925.
7. KOPACZESWKI: *Théorie et pratique des colloïdes*, Paris, Vigot Frères, 1923.
8. LOEB: *Les protéines*, Paris, F. Alcan, 1924.
9. TOCCO-TOCCO: *Arch. intern. de Pharm. et de Therap.*, XXIX, 1924, *ed i lavori in essi citati.*

———

INSTITUT DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE DE L'UNIVERSITÉ DE GAND.

DIRECTEUR : PROF. J. F. HEYMANS.

INFLUENCE DE L'ÉTHYLÈNE SUR LES ÉCHANGES RESPIRATOIRES, LA PRESSION SANGUINE, LE CŒUR ISOLÉ ET LES LEVURES

PAR

J. J. BOUCKAERT.

A l'époque où fut découverte l'anesthésie générale, en 1844, par le protoxyde d'azote, en 1846 par l'éther, et en 1847, par le chloroforme, la plupart des gaz et des liquides volatils, connus à ce moment, furent étudiés à ce point de vue. C'est ainsi qu'en 1849, TH. NUNNELEY (1) expérimenta déjà l'éthylène sur différents animaux et sur l'homme ; il reconnut les propriétés anesthésiantes de ce gaz, mais il lui reprochait de provoquer des convulsions et de la dyspnée. Il semble toutefois établi aujourd'hui que le gaz employé par NUNNELEY n'était pas de l'éthylène mais un dérivé chloré de cet hydrocarbure : ceci explique les différences entre l'action observée par cet auteur et celle démontrée depuis.

En 1864, HERMANN (2) conclut, de ses expériences, que l'éthylène ne possède que des propriétés faiblement anesthésiantes, mais il semble que le gaz employé par cet auteur contenait une certaine proportion d'oxyde de carbone. En 1872, SIMPSON (3) signala également les propriétés narcotiques de l'éthylène, mais il lui trouva trop d'inconvénients pour préconiser son emploi en clinique. En 1874, HERMANN (4) attira à nouveau l'attention sur l'éthylène, lui attribuant ainsi qu'au protoxyde d'azote, une faible toxicité. En 1876, EULENBERG (5) fit remarquer que l'éthylène provoquait des nausées et la perte de connaissance. En 1885, LÜSSEM (6) reprit l'étude expérimentale de l'éthylène, cette fois après purification. Il observa l'anesthésie chez le cobaye et le chien, au moyen d'un mélange d'éthylène-oxygène à 80 %. Il pratiqua même une anesthésie sur lui-même, au moyen de ce mélange. Puis, pendant 32 ans la littérature médicale ne signale plus aucune étude sur l'éthylène.

C'est en 1917 seulement que COTTON (7) y revient et fait remarquer que l'éther additionné d'éthylène a des propriétés anesthésiantes plus marquées : il exprime l'opinion, assez extraordinaire et depuis réfutée, entre autres par BOURNE, STEHLE, DALE, HADFIELD et KING, que l'éther administré à l'état pur, ne possède aucune action narcotique.

L'ère nouvelle de l'éthylène s'ouvre l'année suivante, en 1918, par les expériences de LUCKHARDT et THOMPSON : ces auteurs décrivent l'anesthésie et l'analgésie chez la grenouille, le rat, le chien, au moyen d'un mélange de 80 % d'éthylène avec 20 % d'oxygène.

En 1923, LUCKHARDT et CARTER (8) publient une nouvelle étude sur les propriétés anesthésiques de l'éthylène : leurs expériences portent sur la grenouille, la souris blanche, le rat blanc, le lapin, le cobaye et le chat : ils concluent que des mélanges d'éthylène et d'oxygène, de 85 à 90 % provoquent une anesthésie profonde, que des mélanges de 75 à 85 % ne produisent qu'une dépression, mais non une anesthésie proprement dite ; ils signalent également que la pression sanguine diminue peu pendant cette narcose.

BROWN et HENDERSON (9), vers la même époque publient des résultats analogues.

En 1924, CHAUNCEY D. LEAKE (10, 11), étudie l'influence de la narcose par l'éthylène, sur l'acidité du sang : il observe que, l'éther et le chloroforme produisent une forte chute du Ph ; l'éthylène-oxygène donne lieu à une diminution beaucoup moins prononcée ; cependant dans les cas où le mélange est trop faible en oxygène et donne lieu par conséquent à de l'anoxémie, il y a d'abord une augmentation, précédant la chute du Ph. L'anesthésie par le protoxyde d'azote produirait une courbe analogue à celle de l'éthylène avec anoxémie, la proportion d'oxygène administrée en mélange avec ce gaz aux doses anesthésiantes étant toujours trop faible.

Lorsque, en 1923, LUCKHARDT et CARTER eurent constaté les effets anesthésiques de l'éthylène sur différents animaux, ils furent amenés à essayer l'action de ce gaz, d'abord sur eux-mêmes, et ensuite sur d'autres sujets. L'anesthésie qu'ils obtinrent fut de telle nature, que plusieurs chirurgiens se décidèrent à essayer ce nouveau narcotique pour leurs opérations. Depuis lors, l'extension rapide prise par ce mode d'anesthésie, aux États-Unis d'Amérique, montre combien il doit avoir donné satisfaction aux opérateurs : ainsi en décembre 1923, DEAN LEWIS et LUCKHARDT (12) relatent déjà 800 anesthésies à l'éthylène ; puis en 1924, WILL WALTER (13), JAMES GWATHMEY (14), GRIFFITH DAVIS (15), LUCKHARDT et KRETSCHNER (16) décrivent l'anesthésie éthylénique dans les domaines les plus variés de la clinique chirurgicale.

Employée d'abord avec succès dans les interventions bénignes et de courte durée, elle trouva bientôt son application dans les opérations

graves et de longue durée, l'âge avancé même n'étant pas une contre-indication. FINSTERER, de Vienne, (17) en août 1924, après un voyage aux États-Unis d'Amérique, rapporte que l'anesthésie au moyen du mélange éthylène-oxygène a été appliquée dans plusieurs centaines de cas à la Mayo clinic. En mai 1924, LUCKHARDT (18) évalue le nombre d'anesthésies à l'éthylène-oxygène pratiquées jusqu'à cette date à environ 50.000, et en avril 1925 (19) le même auteur porte ce chiffre au-delà de 100.000. Les principaux avantages signalés par les cliniciens qui employèrent ce narcotique, sont : sommeil et réveil rapide, relâchement musculaire, pas de cyanose, absence de période d'excitation, enfin action minime sur la pression sanguine ; ce serait l'anesthésique de choix dans les opérations à pratiquer sur les diabétiques : il ne donne pas lieu à de l'acidose, et ce n'est que dans les cas où la proportion d'oxygène du mélange est trop faible (5 à 8 %) que l'on observe en même temps que des phénomènes asphyxiques et une diminution de la réserve alcaline, l'apparition d'hyperglycémie. Les seuls désavantages que l'on signale sont, d'une part, les troubles asphyxiques, que l'on peut lever immédiatement grâce à l'addition d'oxygène, et qui sont dûs à une concentration trop grande d'éthylène, et, d'autre part, que l'éthylène additionné de 96 % d'air forme un mélange inflammable et explosif.

On sait que les anesthésiques généraux, tels le chloroforme et l'éther, empoisonnent tout protoplasme et sont même bactéricides. L'administration de ces narcotiques donne lieu à leur accumulation croissante dans les tissus, laquelle provoque toujours une dépression plus ou moins profonde du métabolisme et des fonctions cardio-vasculaires.

Nous nous sommes proposé d'étudier l'influence de l'éthylène, particulièrement à ces différents points de vue, afin de pouvoir établir quelques comparaisons entre l'action de cet anesthésique général nouveau et celle des autres narcotiques employés jusqu'ici (1).

A. — L'anesthésie générale à l'éthylène chez le chien.

Dispositif d'administration.

Pour faire inhaler au chien des mélanges connus d'éthylène-oxygène, nous avons adopté la technique suivante : le chien était muni d'un masque hermétique, qui se trouvait relié à un système de valvules inspiratoire et expiratoire. La valvule inspiratoire pouvait être mise en relation, soit avec l'air extérieur, soit avec un des ballons extensibles, renfermant un mélange, à proportions connues, d'éthylène et d'oxygène.

(1) Une communication préliminaire a paru dans les C. R. Soc. Biol. t. XCI, p. 907, 1924.

Nos expériences indiquent que des mélanges oscillant autour de 90 % éthylène, 10 % oxygène, produisent chez le chien, une anesthésie rapide et profonde après une période d'excitation de courte durée. Au début de l'inhalation, il est bon, comme pour le protoxyde d'azote, de faire inspirer à l'animal du gaz pur, l'anesthésie se produisant encore plus rapidement de cette façon, et cela sans grand inconvénient. En général l'anesthésie est obtenue environ 5 minutes après le début de l'inhalation ; l'anesthésie est complète, c'est-à-dire qu'elle se caractérise par la disparition des réflexes et l'insensibilité absolue. Le relâchement musculaire existe également : l'animal est affaissé et les membres se laissent déplacer sans aucune résistance. Si au cours de l'anesthésie, on élève dans le mélange, le % d'éthylène au-dessus de 90 %, on observe assez rapidement des phénomènes asphyxiques. Des proportions de moins de 90 % d'éthylène produisent encore l'anesthésie complète chez certains animaux, mais chez d'autres l'anesthésie reste superficielle. Un mélange de 85 % éthylène, 15 % oxygène provoque généralement l'insensibilité sans donner lieu au relâchement musculaire complet. Le réveil, après narcose profonde, de courte ou même de longue durée, se produit très rapidement après suppression de l'inhalation : il suffit le plus souvent d'une minute pour que le tonus musculaire et les mouvements réapparaissent. Au début du réveil l'animal a quelques difficultés à se tenir sur les pattes ; c'est le seul phénomène anormal que l'on observe chez le chien, et il peut s'expliquer, au moins en partie, par le fait que nos animaux ont été fixés.

B. — Influence de l'éthylène sur l'élimination de CO^2, la fréquence et le volume respiratoires et la température.

Les expériences de C. HEYMANS (20) ont démontré que les anesthésiques généraux, tels le chloroforme et l'éther, entraînent une forte chute de l'élimination carbonique pouvant atteindre pendant et après la période d'anesthésie, jusque 50 %, ainsi qu'une dépression notable du volume et de la fréquence respiratoire accompagnée d'une chute de la température. Il était intéressant d'examiner l'influence de l'éthylène à ces différents points de vue ; c'est ce que nous nous sommes proposé de réaliser dans une série d'expériences. Pour la détermination de l'élimination carbonique nous nous sommes servi de la méthode décrite antérieurement par J. F. HEYMANS (21) et C. HEYMANS (22), méthode qui permet un dosage fractionné et continu du CO_2 expiré par l'animal. Ci-contre nous reproduisons un schéma de l'appareil.

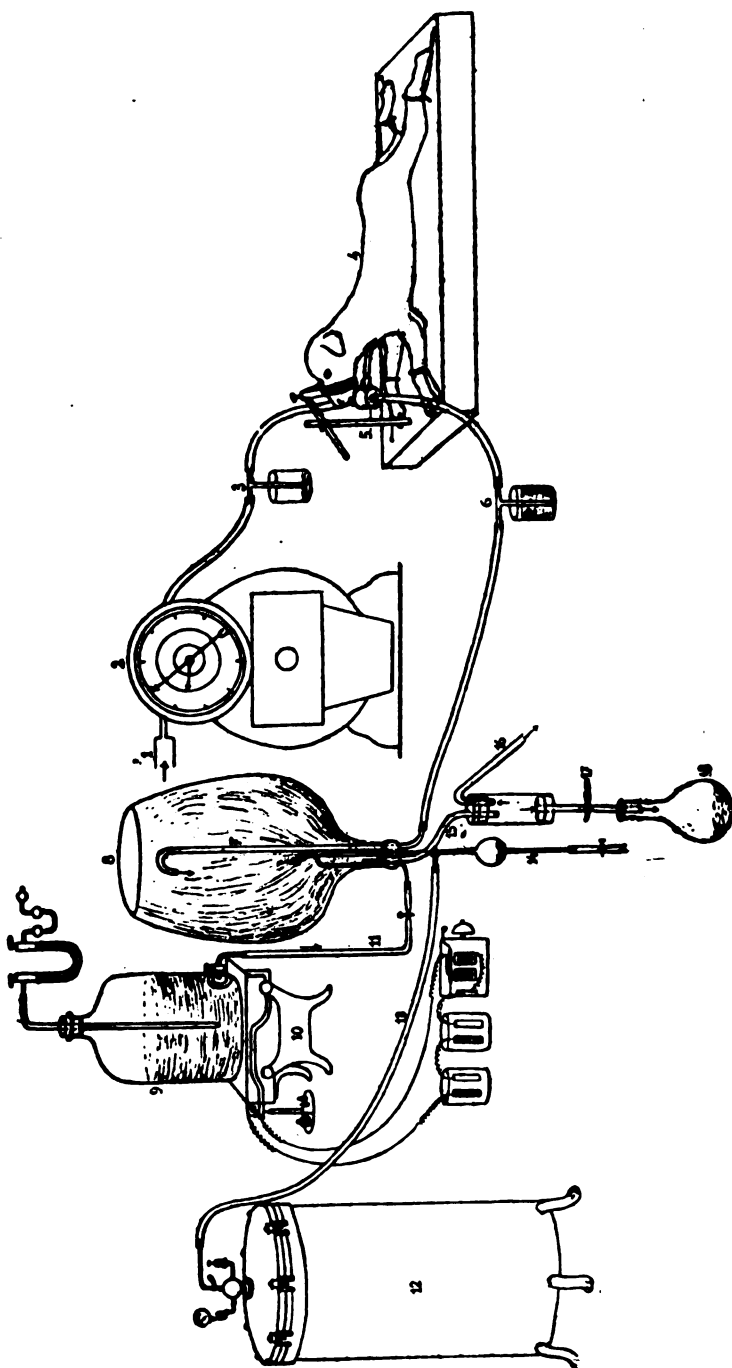



Fig. 1

Texte explicatif du schéma du dispositif employé pour mesurer le volume respiratoire et doser l'acide carbonique éliminé.

1 = Tube d'entrée du mélange gazeux contenu dans deux ballons extensibles, que l'on remplit alternativement.
2 = Compteur de 5 litres, mesurant le volume respiratoire.
3 = Tube en T, faisant fonction de manomètre à eau, mesurant la pression respiratoire négative.
4 = Chien en expérience.
5 = Valvules inspiratoire et expiratoire.
6 = Tube en T faisant fonction de manomètre à eau, mesurant la pression positive de l'expiration.
7 = Extrémité du tube amenant l'air en haut de la tourie.
8 = Tourie.
9 = Flacon de 10 litres avec soude à 20 ou 40 % $\left(\frac{N}{2} \text{ ou } N\right)$
10 = Balance dont les fléaux, lorsqu'ils occupent la position horizontale, ferment le courant actionnant la sonnerie.
11 = Tube avec vis de réglage amenant la soude au pulvérisateur.
12 = Autoclave, générateur de vapeur d'eau sous pression.
13 = Tube amenant la vapeur au pulvérisateur.
14 = Tube collecteur de l'eau de condensation du tube 13.
15 = Tube de sortie pour air et soude.
16 = Tube de sortie de l'air expiré et dépouillé de CO_2.
17 = Pince pour arrêter l'écoulement à chaque dosage ou sonnerie.
18 = Ballon collecteur de la soude : il renferme $BaCl_2$ qui transforme Na_2CO_3 en $BaCO_3$ et NaCl et permet le dosage ultérieur de NaOH en excès, d'où, par différence, CO_2 fixé.

Expériences.

Les expériences portèrent sur 11 chiens; nous donnons deux protocoles in extenso.

Texte explicatif des abréviations.

N°D = Numéros des dosages.
T = heure, minutes, secondes.
T' = Durée en minutes et secondes entre chaque dosage.
V.R. = Volume respiratoire pendant T' (en litres).
V.R.1' = Volume respiratoire pendant une minute (id.).
V.R.1' kgr. = Volume respiratoire pendant une minute par kgr. (id.).
V.CO_2 = Volume carbonique expiré pendant T' (en cc.).
V.CO^2 1' = Volume carbonique expiré pendant une minute (id.).
V.CO_2 1' kgr. = Volume carbonique expiré pendant une minute par kgr. (id.)
T^r = Température rectale.
R. = Fréquence respiratoire à la minute.

Exp. I. — Chien N° 7, poids 4 kgr.

N° D.	T.	T'	V. R.	V. R. 1'	V. R. 1' kgr.	V.CO2	V.CO2 1'	V.CO2 1' kgr.	T°	REMARQUES
1	10 h. 24'23"	2'51	6.200	2.170	0.54	100	35	8.7	38°6	R = 24
2	» 27'24"	3' 1"	6.250	2.060	0.51	94	31	7.7		Ethylène pur inhalé.
3	» 30'26"	3' 2"	6.650	2.200	0.55	119	39	9.7		
4	» 33'24"	2'58"	6.100	2.050	0.51	128	43	10.7		Ethylène-oxygène à
5	» 36'22"	2'58"	4.150	1.390	0.34	91	30	7.5		90% agitation.
6	» 39'23"	3' 1"	8.600	2.850	0.71	141	46	11.4		Insensibilité
7	» 42'29"	3' 6"	4.750	1.540	0.38	152	49	12.2		Relâchement muscu-
8	» 45'32"	3' 3"	4.950	1.620	0.40	55	18	4.4		laire R = 24
9	» 48'32"	3' 0	5.950	1.980	0.49	108	36	9	38°25	
10	» 51'35"	3' 3"	5.250	1.720	0.43	97	31.7	7.9	38° 1	
11	» 54'41"	3' 6"	8.400	2.700	0.67	61	19.7	4.9	37° 9	
12	» 57'45"	3' 4"	7.750	2.500	0.62	147	48	12	37° 7	R = 28
13	11 h. 50"	3' 5"	6.900	2.200	0.54	63	20.4	5.1		léger tonus muscu-
14	» 4' 1"	3'11"	6.700	2.100	0.52	—	—	—	37° 4	laire, éthylène-oxy-
15	» 7'14"	3'13"	7.600	2.360	0.58	91	28	7		gène à 91% relâche-
16	» 10'24"	3'10"	5.850	1.850	0.46	100	31.6	7.9	37° 4	ment musculaire.
17	» 13'42"	3'18"	8.100	2.460	0.61	63	19.1	4.7	37°25	
18	» 16'52"	3'10"	5.750	1.810	0.45	108	34.1	8.5	37° 1	
19	» 19'57"	3' 5"	5.900	1.910	0.47	91	29	7.2		R = 28
20	» 23' 4"	3' 7"	6.050	1.950	0.48	89	28.5	7.1	36° 9	
21	» 26'14"	3'10"	6.900	2.180	0.54	69	21.7	5.4		
22	» 29'16"	3' 2"	7.800	2.570	0.64	102	33.6	8.3	36° 7	
										Supprimé inhalation
23	» 32'38"	3'22"	7.650	2.270	0.56	63	18.6	4.6		Tonus à 11 h. 31'
24	» 35'44"	3' 6"	8.850	2.860	0.71	119	38	9.5		mouv. à 11 h. 31'20"
25	» 38'58"	3'14"	10.600	3.270	0.81	144	44.5	11.1	36° 7	
26	» 42' 8"	3'10"	9.100	2.880	0.72	86	27.1	6.7		R = 24
27	» 45'23"	3'15"	8.600	2.650	0.66	108	33.3	8.3	37° 3	
28	» 48'31"	3' 8"	7.700	2.450	0.61	102	32.5	8.1	37°45	

Comme on voit dans le protocole ci-dessus, colonne VCO_2 1' kgr., l'élimination carbonique par minute et par kgr. d'animal est en moyenne de 8.8 cc. pendant la période préanesthésique; elle est de 7.7 environ pendant, et de 8,05 après la narcose : il y a donc, au cours de l'anesthésie, une très légère diminution du CO_2 expiré atteignant seulement 13% et entrant dans l'ordre de grandeur des diminutions inhérentes à l'immobilisation par la narcose.

Le volume respiratoire est en moyenne de 0.49 L. par minute et par kgr. d'animal avant l'anesthésie, il est de 0.52 L. pendant, et de 0.67 L. après la narcose. La fréquence respiratoire passe de 24 respirations à 28 respirations par minute pendant la narcose. Malgré l'immobilité de l'animal, la température au cours de cette anesthésie de 50 minutes ne baisse que de 1°9 et il est à remarquer qu'elle se relève immédiatement après la suppression de l'inhalation. Chez cet animal narcotisé pendant 50 minutes, le tonus musculaire reparaît une minute 44 secondes après la suppression de l'inhalation et 20 secondes plus tard le chien fait déjà des mouvements.

L'analyse des urines recueillies chez ce chien après la narcose ne révèle la présence ni d'albumine ni de sucre.

Exp. II. — Chien N° 11 : poids de 2.950

N° D.	T.	T'.	V. R.	V. R. 1'	V. R. 1' kgr.	$V.CO_2$	$V.CO_2$ 1'	$V.CO_2$ 1' kgr.	T°	Remarques.
	16 h. 1'40"									
1	» 5'16"	3'36"	6.050	1.600	0.54	111	30	10.4	38° 2	R = 20
2	» 8'44"	3'28"	4.950	1.400	0.47	104	29.9	10		
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Ethylène pur
3	» 12'15"	3'31"	6.200	1.760	0.59	148	42	14.2		
4	» 15'45"	3'30"	5.600	1.600	0.54	152	43	14.5		Ethylène-oxygène à 91%
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Anesthésie profonde
5	» 19'15"	3'30"	7.950	2.270	0.77	152	43	14.5		R = 16
6	» 22'43"	3'28"	4.600	1.320	0.44	129	37	12.5		
7	» 26' 8"	3'25"	5.750	1.680	0.57	152	44	14.9		R = 15
8	» 29'37"	3'29"	6.300	1.800	0.61	152	43	14.5		Ethylène-oxygène
9	» 32'55"	3'18"	5.600	1.680	0.57	148	44	14.9		90%
10	» 36'20"	3'25"	5.200	1.520	0.51	134	39	13.2		légers mouvements,
11	» 39'44"	3'24"	4.600	1.350	0.45	134	39	13.2		E.-O. 91%
12	» 43' 5"	3'21"	7.500	2.240	0.76	143	42	14.2		Relâchement muscu-
13	» 46'27"	3'22"	7.250	2.150	0.72	143	42	14.2		laire. Anesthésie
14	» 49'54"	3'27"	8.250	2.300	0.81	129	35	11.8		profonde.
15	» 53'15"	3'21"	7.400	2.210	0.75	---	—	—		Relâchement muscu-
16	» 56'35"	3'20"	7.400	2.210	0.75	152	45	15.0		laire.
17	» 59'48"	3'13"	6.900	2.140	0.72	157	34	11.5		
18	17 h. 3'12"	3'24"	8.150	2.400	0.81	143	42	14.2		
19	» 6'38"	3'26"	7.500	2.190	0.74	139	40	13.5		
20	» 10'	3'22"	5.750	1.700	0.57	143	42	14.2		
21	» 13'19"	3'19"	6.800	2.050	0.69	152	45	15.2		
22	» 16'48"	3'29"	7.050	2.020	0.68	139	40	13.5		
23	» 20'32"	3'44"	7.250	1.940	0.65	152	40	13.5		R = 24

N° D.	T.	T'	V. R.	V. R. 1'	V. R. 1' kgr.	V.CO$_2$	V.CO$_2$ 1'	V.CO$_2$ 1' kgr.	T°	REMARQUES.
24	» 24'12''	3'40''	6.700	1.830	0.61	125	34	11.5		
25	» 27'52''	3'40''	6.350	1.730	0.58	152	41	13.9		
26	» 31'27''	3'35''	7.100	1.980	0.67	152	42	14.2		
27	» 35' 8''	3'41''	6.750	1.830	0.61	150	40	13.5		R = 20
28	» 39'13''	4' 5''	7.300	1.790	0.60	148	36	12.2		
29	» 42'51''	3'38''	6.500	1.790	0.60	157	31	10.5		R = 22
30	» 46'33''	3'42''	6.900	1.860	0.63	143	38	12.8		
31	» 50'10''	3'37''	6.050	1.670	0.56	143	39	13.2		
32	» 53'53''	3'43''	6.900	1.850	0.62	148	39	13.2		R = 20
33	» 57'30''	3'37''	6.850	1.890	0.64	146	40	13.5		
34	18 h. 1'15''	3'45''	7.650	2.040	0.69	139	37	12.5		Quelques mvts. Aug-
35	» 4'53''	3'38''	6.900	1.900	0.66	148	40	13.5		menté oxygène. Anes-
36	» 8'34''	3'41''	7.150	1.940	0.65	148	40	13.5		thésie profonde.
37	» 12'15''	3'41''	6.850	1.860	0.63	134	36	12.2		R = 28
38	» 16' 7''	3'51''	6.600	1.710	0.58	125	32	10.8		Eth.-oxygène 85%
39	» 19'40''	3'33''	9.100	2.560	0.86	143	40	13.5		mouvements.
40	» 23'33''	3'53''	6.900	1.780	0.60	176	45	15.2		»
41	» 26'50''	3'17''	8.750	2.660	0.90	190	38	12.8		»
42	» 30'48''	3'58''	5.350	1.350	0.45	148	37	12.5		»
43	» 34'34''	3'46''	8.400	2.210	0.74	152	40	13.5		»
44	» 38'15''	3'41''	5.750	1.560	0.52	157	31	10.5		Anesthésie profonde.
45	» 41'56''	3'41''	5.550	1.500	0.50	139	37	12.5		
46	» 45'38''	3'42''	5.650	1.520	0.51	150	40	13.5		
47	» 49'24''	3'46''	6.000	1.590	0.64	143	38	12.8	37° 1	
48	» 53'10''	3'46''	6.350	1.580	0.53	143	38	12.8		
										Supprimé l'inhalation
49	» 57'	3'50''	5.900	1.540	0.52	148	38	12.8	37° 1	Presque immédiatement mouvements.

Au cours de cette expérience, la narcose à l'éthylène-oxygène ne provoque pas de diminution de l'élimination carbonique mais plutôt une légère augmentation : la moyenne de l'élimination carbonique qui était de 12.2 cc. CO_2 avant la narcose, est environ 13.2 cc. pendant l'anesthésie. Le volume et la fréquence respiratoire augmentent parallèlement. La chute de la température est moins marquée que dans l'expérience précédente : après une narcose d'environ 3 heures, elle n'est descendue que de 38°2 à 37°1.

Les deux expériences citées ci-dessus, complétées par neuf autres qui ont donné des résultats semblables permettent de conclure que pendant l'anesthésie profonde par l'éthylène variant de 20 minutes à environ trois heures, on n'observe pas, chez le chien, de diminution appréciable de l'*élimination carbonique*, mais au contraire parfois une légère augmentation. Dans l'ensemble, l'anesthésie à l'éthylène-oxygène, contrairement à l'anesthésie au chloroforme ou à l'éther, ne déprime que faiblement le métabolisme respiratoire carbonique (fig. 2).

Le *volume respiratoire*, loin de diminuer pendant la narcose, comme c'est le cas pour le chloroforme et l'éther, présente une augmentation progressive avec la durée de l'anesthésie éthylénique : cette augmentation peut atteindre dans certains cas jusque 300 %, dans d'autres cas elle est moins prononcée, mais jamais nous n'avons observé de diminution.

La *fréquence respiratoire s'accélère*, en général, progressivement,

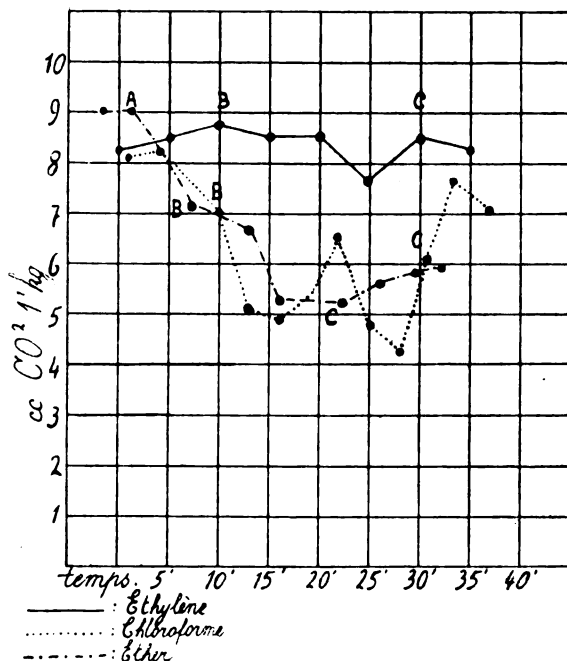



Fig. 2. — Élimination respiratoire de CO^2 pendant des anesthésies à l'éthylène, au chloroforme ou à l'éther.

A : début de l'inhalation de l'anesthésique.
B : début de la narcose complète.
C : fin de l'inhalation de l'anesthésique.

avec la durée de l'anesthésie. Cette augmentation de la fréquence respiratoire est toutefois moins prononcée que celle du volume respiratoire ; au cours de la narcose éthylénique, les mouvements respiratoires deviennent surtout plus profonds.

Cette augmentation du volume et de la fréquence respiratoire, est due, en partie au moins, au fait que le mélange inhalé ne contient que 10 % oxygène alors que l'air athmosphérique en contient 20. Ces expériences démontrent toutefois que le centre respiratoire n'est nullement déprimé par l'éthylène, même pendant une anesthésie profonde et de longue durée.

La *température* rectale du chien au cours de l'anesthésie éthylénique présente en général une chute peu marquée : c'est ainsi qu'après une anesthésie d'environ trois heures elle ne fut que de 1°1, dans d'autres cas elle fut un peu plus forte sans jamais tomber notablement en-dessous des chiffres dus à la simple immobilisation prolongée. Après suppression de l'inhalation d'éthylène, la température remonte très rapidement vers la normale, alors qu'après anesthésie au chloroforme et à l'éther, elle continue généralement à baisser pendant quelque temps encore.

C. — **Influence de l'éthylène sur l'état général.**

Nous avons d'abord pratiqué des anesthésies répétées et différemment prolongées sur un même chien : c'est ainsi qu'un même animal,

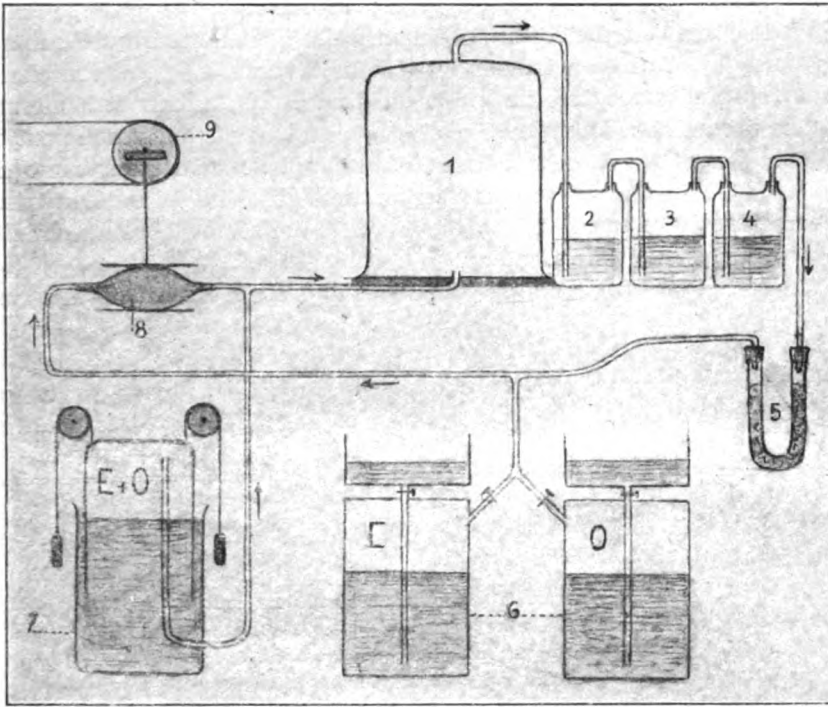



Fig. 3.

1. = Cloche.
2. =
3. = Flacons laveurs contenant une solution concentrée de soude.
4. =
5. = Tube en U contenant du $CaCl_2$ et servant à déshydrater l'atmosphère du circuit.
6. = Réservoirs contenant de l'éthylène (E) de l'oxygène (O).
7. = Gazomètre contenant un mélange connu d'éthylène-oxygène.
8. = Poire en caoutchouc, munie de deux valvules, comprimée périodiquement par un plateau actionné par la poulie (9) mue par un moteur électrique.

a été soumis en 20 jours à 7 séances d'anesthésie dont la durée variait entre 38 minutes et une heure 10 minutes. Ce chien n'a présenté, à aucun moment, de la perte d'appétit ou une diminution de poids : alors qu'il pesait 4.050 kgr. lors de la première expérience, 20 jours plus tard, lors de la 7e anesthésie, il pesait 4.100 kgr. Il ne présenta aucun symptôme du côté des voies respiratoires ni des voies rénales et des recherches de sucre et d'albumine effectuées à différentes reprises sur les urines furent toujours négatives.

Ces expériences sur le chien ont été étendues ensuite au cobaye.

Pour cette étude sur le cobaye nous nous sommes adressé à une technique qui dispense de fixer l'animal et dont le schéma (fig. 3), ci-contre fournira l'explication.

Deux cobayes sont placés sous la cloche (1) dans un circuit fermé : ce circuit se trouve en relation avec un gazomètre (7) contenant un mélange connu d'éthylène-oxygène ; le mélange de gaz contenu dans le circuit circule continuellement grâce à un moteur qui actionne la poire (8) et passe à travers les flacons laveurs 2, 3, 4 contenant une solution concentrée de soude qui fixe le CO_2 au fur et à mesure de sa production. Le volume d'oxygène et d'éthylène absorbé peut se lire au gazomètre et est remplacé automatiquement. Les réservoirs 6 (E) et 6 (O) contiennent respectivement de l'éthylène et de l'oxygène permettant d'augmenter la concentration de l'atmosphère du circuit, en éthylène ou en oxygène.

Nous reproduisons ci-dessous le résumé d'une de nos expériences.

Cobayes H (450 grs) ♂. et I (510 grs.) ♀

Temps	Cobaye H.	Cobaye I	Remarques
12 h. 20′	placé sous la cloche	placé sous la cloche	
12 » 27′			Chassé éthylène à travers le circuit.
12 » 50′	assoupi	assoupi	
13 »	réagit au bruit f. r. (fréquence respiratoire) = 124 par min.	ne réagit pas au bruit f. r. = 40, respiration un peu saccadée.	
13 » 30′	réagit au bruit f. r. = 128	ne réagit pas au bruit f. r. = 24	
13 » 37′	mouvement	calme	
14 »	pas d'anesthésie complète, f. r. = 96	anesthésie semble complète f. r. = 72	
14 » 27′	assoupi, quelques mouvements f. r. = 100	idem f. r = 56	
14 » 45′	fortement assoupi f. r. = 80	f. r. = 56	
15 » 10′	assoupi f. r. = 88	anesthésie semble complète f. r = 52	
15 » 35′			ajouté oxygène

TEMPS	COBAYE H.	COBAYE I	REMARQUES
15 h 44'	quelques mouvements, tremblements f. r. = 88	idem f. r. = 48	
15 » 49'	mouvements		
16 » 15'	mouvements f. r. = 76	idem f. r. = 40	ajouté 300 ccm O.
16 » 37'	quelques mouvements	quelques mouvements	» 100 ccm O.
16 » 42'	f. r. = 100	f. r. = 80	» 300 ccm. éthylène
16 » 45'	mouvements	assoupi non anesthésié	» 300 ccm O.
16 » 52'			» 300 ccm éthylène
17 » 10'			
17 » 25'	quelques mouvements	quelques mouvements	
17 » 30'	couché sur le côté f. r. = 88	f. r. = 88	
17 » 37'	aucun mouvement	aucun mouvement	
17 » 40'	réagit au bruit, calme	semble profondément anesthésié	
18 » 25'	quelques mouvements saccadés f. r. = 64	f. r. = 48	
18 » 50'	Idem. f. r. = 92	idem	
19 »	assoupi f. r. = 60	assoupi f. r = 52	
19 » 13'	Tremblements	Mouvements après 3-4'	Arrêté l'expérience

Au sortir de la cloche les deux cobayes présentent des mouvementsI et des tremblements ; le lendemain et les jours suivants ils semblents tous deux complètement normaux. Cette expérience montre donc qu'une inhalation d'éthylène pendant plus de 6 heures n'intoxique point le cobaye. Les observations recueillies au cours de cette expérience ont été confirmées par d'autres effectuées avec la même technique.

D. — Influence de l'éthylène sur les fonctions circulatoires.

1° *Cœur isolé de Grenouille.* — Nous nous sommes adressé à la méthode de STRAUB : ligature des vaisseaux en relation avec le cœur et introduction d'une canule par l'aorte dans le ventricule : cette canule contient du Ringer à travers lequel on fait barbotter, soit de l'oxygène, soit de l'éthylène.

La figure 4 donne en I les contractions du cœur de grenouille soumis au liquide de perfusion normal et en II le même cœur soumis

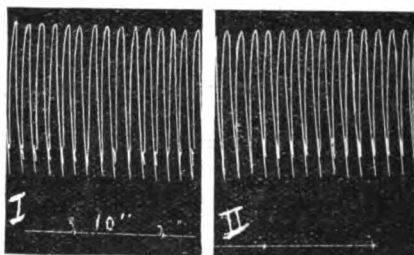
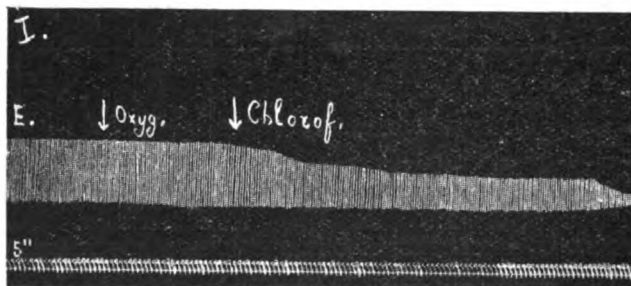
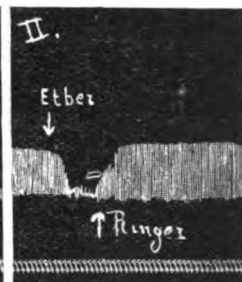



Fig. 4. — Cœur isolé de grenouille.

I : Ringer normal.
II : Ringer saturé d'éthylène.

au liquide de perfusion saturé d'éthylène à 90 % depuis environ 9 minutes.

La fig. 5 donne en E les contractions du cœur isolé sous l'influence du Ringer saturé d'éthylène ; en ↓ oxygène, on remplace ce Ringer-

Fig. 5 Fig. 6
Cœur isolé de grenouille.

éthylène par du Ringer normal saturé d'oxygène ; en ↓ chlorof. on ajoute quelques gouttes de chloroforme au liquide de Ringer. La fig. 6 donne l'action cardiaque du Ringer saturé d'éther. Ces expériences démontrent que l'éthylène n'influence ni la hauteur de contraction, ni la fréquence cardiaque, ni le tonus myocardique ; contrairement au chloroforme et à l'éther qui exercent, fait déjà connu, une influence dépressive sur le cœur isolé de grenouille.

2° *Cœur isolé du lapin.* — Nous nous sommes servi de la méthode de LANGENDORFF pour la survie du cœur isolé du lapin ; les vaisseaux du cœur hormis l'artère pulmonaire étant préalablement ligaturés, on

introduit une canule dans l'aorte; cette canule peut se mettre en communication avec deux flacons de Mariotte contenant l'un du sang défibriné étendu de Tyrode saturé d'oxygène, l'autre le même liquide saturé d'éthylène. Avant d'arriver au cœur, le l'qu'de de perfusion traverse un manchon qui, grâce à une circulation d'eau tiède, porte sa température à 37°.

La fig. 7 reproduit un tracé extrait d'une de nos expériences.

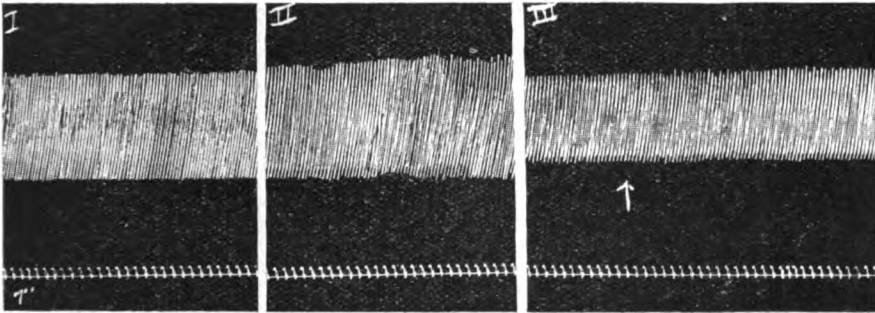



Fig. 7. — Cœur isolé du lapin.

En I : contractions cardiaques après cinq minutes de perfusion du liquide saturé d'éthylène.

En II : contractions cardiaques après 15 minutes de perfusion du liquide saturé d'éthylène.

En III. : le liquide saturé d'éthylène est remplacé (↑) par du liquide normal après une perfusion de 18 minutes.

Cette expérience montre que l'éthylène n'a pas d'action dépressive sur le cœur isolé de lapin après une perfusion de 15 min. avec un liquide saturé d'éthylène ; après 18 minutes l'amplitude cardiaque diminue légèrement sans que toutefois le retour au liquide de perfusion normal parvienne à augmenter l'amplitude.

3° *Pression sanguine.* — D'après LUCKHARDT, l'éthylène influence très peu la pression sanguine. D'après nos expériences, la pression sanguine s'élève légèrement pendant l'anesthésie à l'éthylène et s'abaisse faiblement ensuite. Ainsi, dans une de nos expériences (fig. 8), la pression, qui était de 15 cm. Hg avant (fig. 8, I), s'élevait à 16 cm. pendant (fig. 8, II) est de 15 cm. Hg. vers la fin d'une anesthésie de 50 minutes environ (fig. 8, III).

E. — Influence de l'éthylène sur les levures.

Les expériences ci-dessus, sur l'animal in toto et celles sur le cœur isolé, indiquent que les différentes fonctions de l'organisme, à part celle du système nerveux, ne sont pas ou peu modifiées par

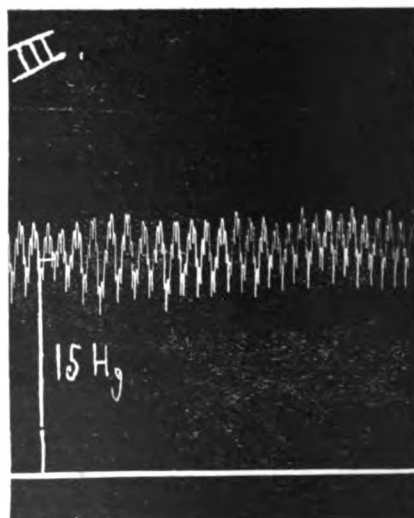
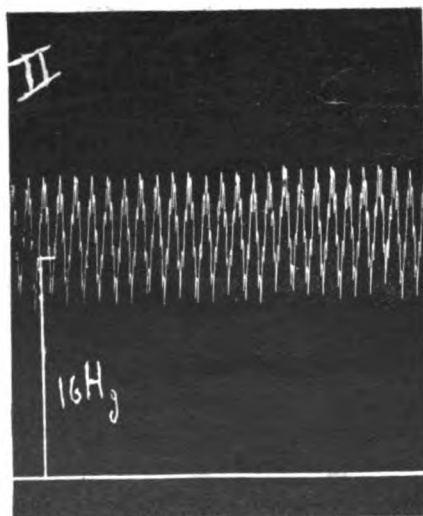
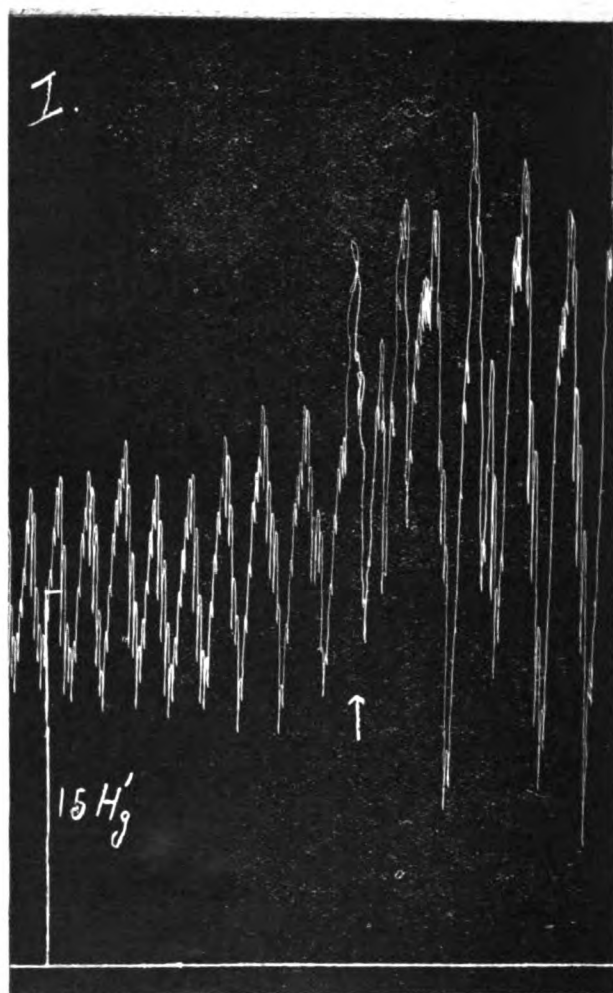



Fig. 8. — I : Pression sanguine et cœur du chien, en ↑ : inhalation d'éthylène.
II : Pression sanguine et cœur du chien au cours de l'anesthésie à l'éthylène.
III : Pression sanguine et cœur du chien à la fin d'une anesthésie de 50 minutes.

l'éthylène. On sait d'autre part que le chloroforme agit profondément sur les phénomènes oxybiotiques et même sur les phénomènes anoxybiotiques : il diminue entre autres l'activité et la vitalité des cellules de levure. Nous avons également voulu étudier l'influence de l'éthylène à ce point de vue.

1° — *Influence sur les fermentations alcooliques.*

Dispositif : Trois flacons d'Erlenmeyer A, B et C contenant chacun 50 cc. du milieu du culture suivant :

Glucose	5 grs.
Phosphate bisodique	2 »
Eau distillée	93 »

dans lequel avait été au préalable émulsionnée une certaine quantité de levure de bière. Chaque flacon porte un tube d'entrée allant jusqu'au fond du liquide et amenant pour A, de l'air, et pour B et C un mélange d'éthylène-oxygène à 80 % contenant donc approximativement la même quantité d'oxygène que l'air borbotant dans le flacon A. A certains intervalles un échantillon est prélevé en même temps dans chaque flacon et l'on fait le dosage du sucre d'après la méthode de BERTRAND. La fig. 9 ci-dessous résume une de nos expériences et elle

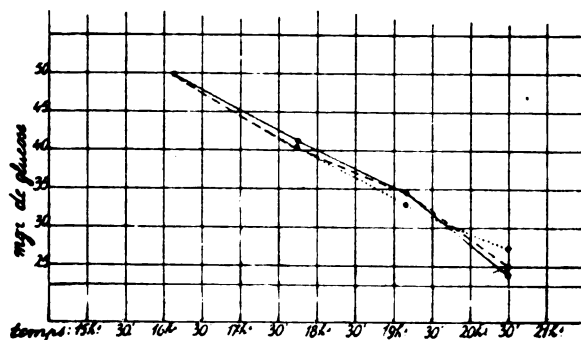



Fig. 9. — Action de l'éthylène sur la fermentation alcoolique des levures. En abcisses le temps, en ordonnées les quantités de sucre transformées, exprimées en milligrammes.

——— se rapporte au flacon A. (air).
– – – » » » B. (oxygène-éthylène).
. . . . . » » » C. (oxygène-éthylène).

démontre que la transformation du sucre se fait dans les mêmes proportions, en présence comme en l'absence d'éthylène ; ce gaz ne déprime donc nullement la fermentation alcoolique des levures.

2. — *Influence sur la multiplication des cellules de levure.*

Afin de voir si la multiplication des cellules de levure était influencée par l'éthylène, nous avons, dans plusieurs de ces expériences, prélevé à différents intervalles, quelques gouttes dans chacun des flacons et fait la numération des cellules, à l'hémacytomètre de Thoma-Zeiss.

Ci-dessous les chiffres obtenus au cours d'une de ces expériences, dans le flacon A barbotte de l'air, dans le flacon B de l'éthylène-oxygène

Temps	A	B
15 h. 35′ (début)	21 cellules	21 cellules
18 h. 30′	24 »	25 »
21 h.	27 »	28 »
le lendemain 9 h. 7′	60 »	63 »

L'éthylène ne modifie donc pas la vitalité des cellules de levure, celles-ci se multipliant également bien en présence comme en l'absence d'éthylène.

CONCLUSIONS.

De l'ensemble des expériences nous pouvons conclure :

1° L'éthylène, en mélange avec l'oxygène dans des proportions de 90 % environ, produit chez le chien une anesthésie rapide et profonde, disparaissant presque instantanément après cessation de l'inhalation.

2° L'anesthésie à l'éthylène, contrairement à celles au chloroforme et à l'éther, ne diminue pas l'élimination carbonique respiratoire d'une façon appréciable, elle l'augmente au contraire légèrement dans certains cas.

3° Le volume et la fréquence respiratoires, diminués au cours de l'anesthésie au chloroforme et à l'éther, présentent généralement une augmentation pendant la narcose éthylénique. Ces faits démontrent que le centre respiratoire n'est nullement déprimé par l'anesthésie à l'éthylène.

4° La température s'abaisse peu, pendant l'anesthésie à l'éthylène, cette baisse doit être mise en rapport avec la disparition du tonus musculaire et des mouvements; elle remonte immédiatement après cessation de l'inhalation.

Les centres thermorégulateurs et le métabolisme cellulaire général semblent donc rester indemnes pendant la narcose éthylénique.

5° Des anesthésies répétées et de longue durée n'affectent pas l'état général d'une façon sensible, chez le cobaye le réveil est presque instantané, même après une anesthésie d'environ six heures. En outre, ni les voies respiratoires, ni les voies rénales ne semblent atteintes chez le chien et le cobaye par des anesthésies répétées et prolongées.

6° L'éthylène n'a pas, contrairement au chloroforme et à l'éther, d'action dépressive sur le cœur isolé de grenouille et de lapin.

7° La pression sanguine du chien s'élève légèrement au début de l'anesthésie, elle peut tomber légèrement sous la normale vers la fin d'anesthésies prolongées.

8° L'éthylène n'influence ni la multiplication des cellules de levure, ni la fermentation alcoolique.

BIBLIOGRAPHIE.

1. NUNNELEY THOMAS. — *Tr. Prov. M. & S. As.* London 1849, pp. 167-381.

2. HERMANN. — *Arch. für Anatomie und Physiologie*, 1864, p. 521.

3. SIMPSON. — New-York D. Appleton & C° ; 1872, pp. 165-166.

4. HERMANN. — *Lehrbuch der experimentellen Toxicologie*, 1874 S. 276-101.

5. EULENBERG. — *Gewerbehygiene*, 1876, S. 398.

6. LÜSSEM. — *Zeitschrift für Klin. Med.*, 9, 398, 1885.

7. COTTON J. H. — *Canadian M. A. J.* : 7, 769 (Sept.) 1917.

8. LUCKHARDT and CARTER. — *Journal of American Med. Assoc.*, vol. 81, pp. 1851-1857.

9. BROWN & HENDERSON. — *Arch. internat. pharm. & therap.*, 1923, pp. 28-257.

BROWN. — *American Journal of Surgery*, 1924, vol. 38, n° 1, p. 4.

10. CHAUNCEY D. LEAKE. — *Journ. of American Med. Assoc.* vol. 83 – pp. 2062-2065.

11. CHAUNCEY D. LEAKE, 1924, *Brit. Journ. of Anesthesia*, vol. II, n° 2.

12. LUCKHARDT & LEWIS. — *Journ. of Americ. Med. Assoc.*, vol. 81, pp. 1831-1857.

13. WILL WALTER. — *Current Researches in anesthesia and analgesia*, vol. III, n° 2, April 1924.

14. JAMES T. GWATHMEY. — *Americ. Journ. of Surgery*, vol. 38 n° 4, p. 31.

15. GRIFFITH DAVIS. — *Americ. Journ. of Surgery*, July 1924, vol. 38, n° 7, p. 76.

16. LUCKHARDT & KRETSCHNER. — *Journal of Urology*, vol. XII, n° 4, April 1924.

17. FINSTERER. — *Wiener Klin. Wochenschrift*. August 1924, 37, n° 33. S. 808.

18. LUCKARDT. — *Journal of American Med. Assoc.*, 1924, vol. 82, pp. 1603-04.

19. LUCKARDT. — *Klin. Wochenschrift*, 1925, IV n° 16, p. 739.

20. HEYMANS C. — *Arch. intern. Pharm. et Thérap.*, vol. 25, p. 493, 1921.

21. HEYMANS J. F. — *Idem.* vol. 25, p. 1., 1921.

22. HEYMANS C. — *Idem.* vol., 26, p. 443, 1922.

(8 fig.), p. 343. — LUIGI TOCCO-TOCCO, Le fini modificazioni strutturali che si osservano nelle sezioni trasversali delle miofibrille di rana per azione di alcuni alcaloidi e di alcuni glicosidi cardiocinetici (7 fig), p. 359. — P-M. NICCOLINI e A., PEZCOLLER, Sul valore della reazione biologica per l'identificazione dell' aconitina (1 fig), p. 377. — ALFREDO CHISTONI, Sul comportamento dell'acido acetilsalicilico nell'organismo p. 397. — E. HUYGHEBAERT, Action hémoly tyque du bleu de méthylène, (1 fig.), p. 405. — E. HUYGHEBAERT, Sur le rôle de la rate dans l'intoxication, l'anémie et la regénération globulaire (5 fig.), p. 435. — D. DANIÉLOPOLU, D. SIMICI et C. DIMITRIU, Action de la papavérine sur l'estomac de l'homme (6 fig.), p. 471. — A. RADEMAEKERS and TORALD SOLLMANN, Investigations on saline cathartics. — I. Magnesium Sulphate on Excised Intestine: Minimal Concentration applied externally in Locke's Solution; Magnus method (6 fig.), p. 481. — LUIGI TOCCO-TOCCO. Sul meccanismo di arresto del cuore di rana sotto l'azione del cloruro di bario (11 fig.), p 489.

1925 Vol. XXX. — EDGARD ZUNZ, Recherches sur l'action de la narcophine sur la digestion de la viande chez le chien (2 fig.), p. 1. — LUIGI TOCCO-TOCCO, Al di la' Dei cinque sensi. (Ricerche fisiologia entomologica) (1 fig. et 2 cartes), p. 65. — A. D'HAENENS, Esérine-atropine sur l'intestin de lapin in vitro (2 fig.), p. 77. — FR. WARMOES, Les contractions postmortelles de l'intestin, (1 fig.), p. 113. — S. DE BOER, N. B. DREYER et A. J. CLARK, Plain muscle stimulants in body fluids, p. 141. — AUGUSTE LUMIÈRE et HENRI COUTURIER, Sur la toxicité du sérum gélosé, p. 151. — AUGUSTE LUMIÈRE et MARCEL SORS, Effets de l'introduction des bases et des acides dans l'organisme. Variations de l'indice pH., (5 fig.), p. 157. — FR. WAERMOES, Les poisons du système nerveux local ou métasympathique de l'intestin (12 fig.), p. 171. — LÉO DECKERS, Chloroforme et éther Doses nécessaires aux différents stades de la narcose (20 fig.), p. 229. — GUGLIELMO SORBI. Influenza dello iodoformio, combinato con gli ipnotici, sull' eccitabilita generale in rana esculenta, p. 251. — G. PENNETTI, Ricerche sperimentali sul saturnismo, p. 255. — C. HEYMANS, Dosage biologique de l'activité vaso-hypertensive et ocytocique des extraits d'hypophyse (2 fig.), p. 275. — ACH. D'HAENENS, Localisation de l'arsenic après injections intraveineuses, p. 291. — C. DIMITRACOFF, L'excitabilité des nerfs accélérateurs du cœur et l'atropine (8 fig.), p 311. — T. ALDAY REDONNET. Contribution à l'étude pharmacodynamique et toxicologique du Somnifène, (5 fig.), p. 321. J BORDET, Remarques sur la note de MM. Auguste Lumière et Henri Couturier, intitulée « Sur la toxicité du sérum gélosé », p. 353. — KLAUS HANSEN, Ein exakteres Mass für den Alkoholisierungsgrad des Organismus bei psychischen und psychophysiologischen Alkoholversuchen (3 fig.), p. 355. — MARIO AJAZZI-MANCINI, Sull'azione della sodio-nitro-canfora. — Contributo alla farmacologia della canfora. Ricerche sperimentali (13 fig.), p. 385. — C. HEYMANS et A LADON, Recherches physiologiques et pharmacologiques sur la tête isolée et le centre vague du chien. — I. Anémie, asphyxie, hypertension, adrénaline, tonus pneumogastrique, hyperthermie (16 fig. dont 1 hors texte), p. 415. — Index bibliographique des volumes I-XXX des Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie: I. — Table des auteurs, p. I. — II. — Table des matières, p. XXVII.

Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. XXXI, fasc. I-II.

Les Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie

paraissent par fascicules, avec planches et figures intercalées dans le texte au fur et à mesure que les travaux parvenus à la rédaction le permettent.

Six fascicules forment un volume d'environ 500 pages.

Prix du volume XXXI : **100** francs belges.

Prix des volumes antérieurs : **80** francs belges.

Les auteurs reçoivent 50 tirés à part.

Secrétariat de la rédaction : Institut de Pharmacodynamie, 3 Quai Baertsoen, Gand (Belgique)

MAISON D'ÉDITION VANDERPOORTEN & C°, RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.

ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris et J.-F. HEYMANS, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

VOLUME XXXI, FASCICULE III-IV.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, Editeur.
58, rue Coudenberg

PARIS
O. DOIN, Editeur
8, place de l'Odéon.

1926

Table des matières des volumes antérieurs.

ISTITUTO DI MEDICINA LEGALE DELLA R. UNIVERSITA' DI MODENA
DIRETTO DAL PROF. LEONE LATTES.

SULL' USO DEL LUMBRICUS TERRESTRIS PER L'IDENTIFICAZIONE BIOLOGICA DEI VELENI

PER IL

DOTT. MARIO PRATI
Aiuto.

In un lavoro abbastanza recente il Dr. ICARD faceva noto un nuovo metodo di identificazione biologica dei veleni, basato sulla utilizzazione dei lumbricus terrestris. Alcuni accenni dell'A alla notevole sensibilità del verme di fronte ai tossici ed alla possibità di servirsi del lombrico nelle ricerche tossicologiche medico-legali mi hanno spinto ad interessarmi dell'argomento, poichè penso che il compito della tossicologia forense è sempre così complesso e così disseminato di difficoltà, che ogni contributo il quale giovi alla risoluzione degli ardui problemi diagnostici, non può essere che bene accolto.

Non v'è bisogno di mettere in rilievo l'estrema facilità con cui ci si può procurare il materiale per gli esperimenti; il verme si trova in quasi tutti i terreni, in ogni stagione; di più l'animale se posto in acqua di fonte od in terriccio umido, può essere mantenuto in vita per assai lungo tempo. La semplice struttura anatomica del verme aveva già richiamato su di esso l'attenzione dei fisiologi. Così FÜRST, FRIEDLÄNDER, BIEDERMANN, STRAUB, (citati in TIGERSTEDT) utilizzarono l'animale per ricerche sul tessuto muscolare, sui riflessi e sui gangli nervosi. Nessuno però – per quanto mi risulta — ricorse prima dell'ICARD al verme terrestre per esperienze tossicologiche; neppure nel classico lavoro del FÜHNER sulla dimostrazione biologica dei veleni è fatto cenno alla utilizzazione del lombrico.

L'ICARD nelle sue ricerche si limita alla pura osservazione del verme sottoposto all'azione del reattivi, mediante immersione nelle soluzioni velenose di concentrazione conosciuta. Egli trae giudizio, dal comportamento del lombrico in esse, sulla natura e sulla sede nervosa o

muscolare della azione tossica. Usa la stricnina come tipo di veleno del sistema nervoso ed il cloruro di bario come tipo di veleno muscolare ed analizza l'azione di altri tossici in relazione a quella dei due ora detti

L'A considera poi il modo di comportarsi dell' animale immerso solo parzialmente nelle varie soluzioni di veleni Questa intossicazione segmentaria è resa possibile dalle caratteristiche anatomiche e fisiologiche del lombrico che deve essere riguardato come una colonia formata di tanti individui (anelli) capaci di vita indipendente ma nello stesso tempo in stretto rapporto tra di loro. Ciascun anello è provveduto di un ganglio nervoso che agisce indipendentemente dai gangli superiori o cerebroidi; però tutti i gangli sono uniti fra di loro per mezzo di filetti nervosi. La rapidità con cui si impregnano i tessuti in contatto diretto con la sostanza da assorbire e d'altra parte la lentenzza della circolazione, spiegano — secondo l'ICARD — come si può arrivare ad intossicare separatamente una parte, prima che l'altra abbia incominciato ad assorbire. L'ICARD considera l'intossicazione segmentaria come uno degli elementi più importanti del suo metodo per determinare la natura dei veleni, mà egli stesso ammette che per ottenerla occorrono soluzioni un po' forti.

Considerando dunque i pregi di semplicità del reattivo biologico proposto dall'ICARD, e ritenendo un po' troppo empirico il limitarsi alla sola osservazione dell'animale intossicato, ho creduto di praticare esperienze nelle medesime condizioni, ma ricorrendo alla registrazione grafica dei movimenti del verme, nella speranza che in tale modo si potessero ottenere segni più caratteristici dell'avvelenamento e perciò eventualmente una maggior sensibilità nella identificazione.

La tecnica seguita si può riassumere come segue: un' asta di vetro mantenuta verticale da un comune sostegno, porta infilato al suo estremo inferiore un cerchietto di sughero al quale viene fissato il verme mediante un ago sottilissimo. E' opportuno di non trafiggere il lombrico all'estremità caudale, poichè questa si autotomizza con estrema facilità: tale tendenza all'autotomia é tanto meno spiccata quanto più ci si porta con il punto di infissione verso l'estremo cefalico dell'animale. E' sufficiente però per ottenere buoni risultati di passare l'ago a metà circa del corpo del verme Un piccolissimo uncino metallico afferra il capo; l'uncino poi, mediante un filo, è messo in comunicazione con la leva e più precisamente con il suo braccio scrivente. Un recipiente mobile sotto il lombrico permette di immergere questo in parte o completamente nelle soluzioni da studiare. Per provocare eccitamenti del verme intossicato ho ricorso, come ICARD, ma con mediocre risultato allo stimolo mediante un ago arroventato. Preferibilmente però

ho usato la corrente faradica ; con elettrodi molto avvicinati determinavo la stimolazione riflessa ; allontanandoli eccitavo il muscolo.

Và sin d'ora notato che la mancata coincidenza sulle grafiche, del segnale di eccitamento con la eventuale corrispondente contrazione del verme, è dovuta all' arco di cerchio che la leva scrivente descrive nei suoi spostamenti.

Non ho creduto di estendere molto questa prima serie di ricerche eseguite con la procedura dell'immersione perchè, come si vedrà più oltre, i risultati ottenuti non si prestano ad interpretazioni diagnostiche molto fini. In una seconda serie di esperienze ho provocato invece l'avvelenamento iniettando direttamente il tossico nel corpo dell'animale, raggiungendo in tal modo risultati incomparabilmente migliori.

PRIMA SERIE DI ESPERIENZE.

(Avvelenamento per immersione).

Stricnina e cloruro di bario.

Immerso nella sol. 1 % di solfato di stricnina, il verme quasi immediatamente si allunga (fig. 1); per un certo tempo presenta delle deboli contrazioni, poi finisce col restare immobile.

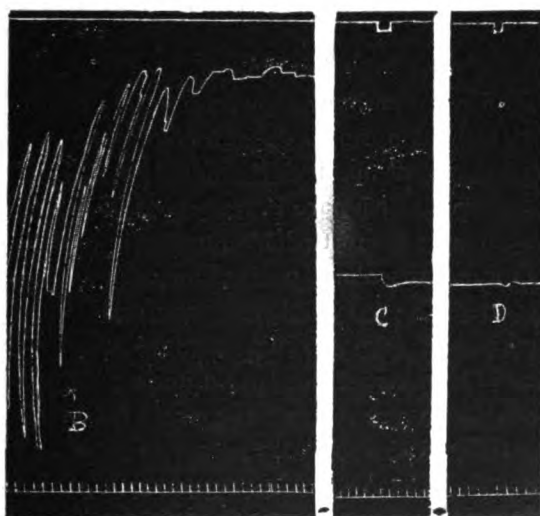



Fig. 1. — B immersione in sol. di stricnina 1 % — C, D. eccitabilità dopo 15 : 20 minuti.

L'eccitabilità sia riflessa che muscolare è subito diminuita, rispetto a quella che si osserva nel verme immerso in sol. fisiologica e cessa del tutto nello spazio di circa un ora. Evidentemente una sol. così concen-

trata paralizza il sistema nervoso centrale del verme. Alla paralisi segue poi la morte dell'animale.

Se s'immerge il verme in cloruro di bario (sol. al 3 %), quando la stricnina ne ha determinato la immobilità senza peraltro averlo ucciso, si nota un accentuatissimo accorciamento del lombrico (fig. 2), accor-

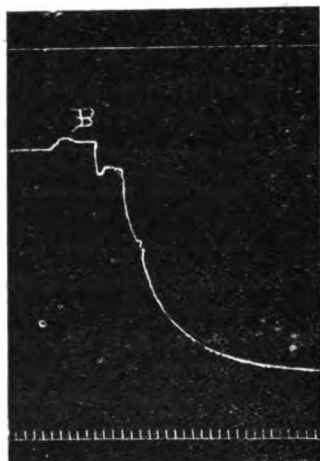



Fig. 2. — Verme stricninizzato. In B immersione in cloruro di Bario.

ciamento dovuto all'azione propria del secondo tossico il quale è capace di esaltare la contrattilità normale del muscolo o di risvegliarne la contrattilità momentaneamente abolita. Quando invece la stricnina abbia agito tanto a lungo da determinare la scomparsa completa della eccitabilità elettrica e con essa la morte dell'animale, il cloruro di bario resta nattivo perchè la fibra muscolare, profondamente alterata dal veleno ha perduto definitivamente ogni possibilità di contrazione.

La dimostrazione della possibilità di intossicazione segmentaria si ottiene raccogliendo la grafica della parte anteriore del verme mentre la sola parte posteriore è immersa in sol. di stricnina all' 1 %. Si verificano allora gli stessi fatti fig 3 A) notati per l'immersione totale allungamento, diminuzione notevole della motilità) per quanto un po' lenti a manifestarsi; ma quando poi si allontana, recidendola con le forbici, la parte posteriore intossicata (fig. 3 B) l'animale riprende a contrarsi come in sol. fisiologica. L'azione — in questo caso paralizzante — esercitata dall'alcaloide sulla parte del sistema nervoso corrispondente alla porzione immersa, si trasmette dunque per mezzo dei filetti nervosi anche alla parte che non è stata a diretto centatto con la stricnina.

Il tracciato che si ottiene con la sol. all' 1 : 1000 muta alquanto rispetto al precedente. Si ha anzitutto un periodo iniziale in cui i movimenti del verme sono molto più ravvicinati che non in sol. fisiologica. Poi mentre la motilità va spegnendosi ed il verme si trova in uno stato di permanente allungamento si osserva che l'eccitabilità riflessa è un pò aumentata. Difatti usando la stimolazione faradica il verme si contra e

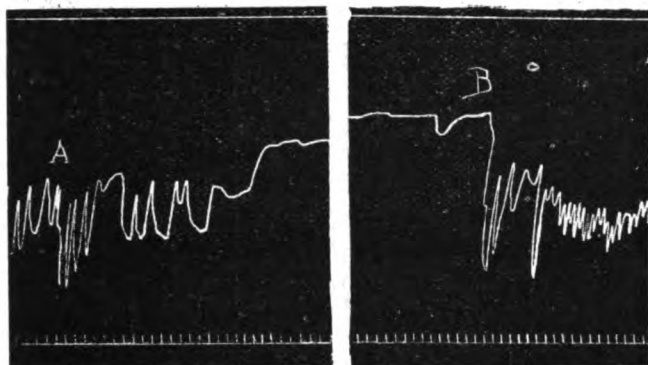



Fig. 3 A, immersione segmentaria in stricnina 1 %.

Fig. 3 B, recisione del segmento intossicato,

più intensamente dopo l'avvelenamento che non prima. Però siccome l'assorbimento dell'alcaloide continua in modo che se ne accumulano forti quantità nell'organismo del verme, anche la eccitabilità va' poi lentamente diminuendo e dopo 4 ore circa è abolita. In questo momento il verme è completamente paralizzato.

Passando alle diluizioni più forti (ad es, 1: 20.000) non si ottengono più tracciati sufficientemente caratteristici.

Ciò che si rileva dalle grafiche non corrisponde del tutto a quanto ha osservato Icard; sopratutto non si registrano, specialmente nelle sol. concentrate di stricnina le violente convulsioni di cui egli parla, poichè non mi sembra che si possano così definire i vivaci movimenti che l'animale presenta, per breve periodo di tempo, all'inizio dell'immersione in sol. all' 1: 1000.

Con soluzioni non troppo concentrate si rileva abbastanza bene l'aumento della eccitabilità riflessa, ma le dosi di veleno che lo provocano sono molto più forti di quelle capaci di determinare lo stesso effetto nella rana (1/100 di mgr. secondo Fühner).

Cocaina.

Il lombrico immerso in una sol. di cloridrato di cocaina all' 1 o 2 %, continua a muoversi notevolmente per un certo tempo, poi

rallenta man mano le sue escursioni sino ad arrestarsi del tutto, tale immobilità si può spiegare (ICARD) con il fatto che le comuni stimolazioni dell'ambiente esterno non giungono ad eccitare i centri motori essendo paralizzate le terminazioni nervose sensitive La eccitabilità persiste però ancora per parecchio tempo (circa 1 ora) di fronte a stimolazioni più intense come quella faradica (fig. 4 A). Su questo punto le mie constatazioni non concordano con quelle dell'ICARD, che con una

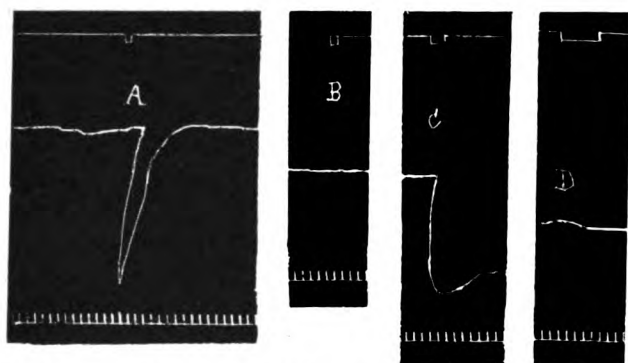



Fig. 4. — Eccitabilità dopo immersione in cocaina 2 °/₀.

A = eccitam. riflesso (elettrodi a distanza di 2 mm.) — dopo 1 ora.
B = id. id. id. id. dopo 1 ora e 50'.
C = eccitam. muscolare (elettrodi a distanza di 25 mm.) — dopo 1 ore e 55',
D = id. id. id. id. dopo 2 ore e 20'.

sol. al 2 °/₀ trova che dopo 8-10 minuti il verme non reagisce più ad alcuna eccitazione. Si può pensare che il mezzo di eccitamento usato dall'autore (ago rovente) non rappresenti uno stimolo adeguato. Allorquando l'eccitabilità cutanea è completamente abolita (fig. 4 B) se si allontanano notevolmente gli elettrodi in modo da stimolare il muscolo (C) il verme presenta ancora dei movimenti, che però vanno con rapidità estinguendosi (D). Dunque in primo tempo semplice anestesia cutanea in secondo tempo azione della cocaina su tutto l'organismo del verme e quindi anche sul sistema muscolare, del quale viene compromessa la peculiare contrattilità,

Pure significativo è il comportamento del lombrico cocainizzato ed immerso in sol. di stricnina all' 1 : 1000. Se l'immersione in stricnina avviene quando l'intossicazione cocainica è ancora limitata alle vie sensitive periferiche, l'asse nervoso centrale risente l'azione del 2° veleno ed il verme presenta alcuni spiccati movimenti ; che se invece l'immersione in stricnina si effettua più tardi, quando cioè la cocaina ha già estesa la sua azione anche al sistema nervoso centrale paralizzandolo ne più ne meno come un narcotico, la stricnina evidentemente non può esplicare la sua azione eccito-motrice.

Infine, e ciò conferma quanto ho detto a proposito dell'eccitabilità muscolare, il cloruro di bario fatto agire quando è spenta l'eccitabilità cutanea (e solo questa) determina il solito accorciamento mentre — e se ne capisce agevolmente il perchè — non agisce più sul verme la cui eccitabilità muscolare allo stimolo faradico sia già abolita.

Se si raccoglie il tracciato della metà anteriore del verme, mentre la sola metà posteriore libera, resta immersa nella soluzione di cocaina all' 1-2 °/₀ si nota che la grafica è in tutto simile a quella che si ha a verme immerso in sol. fisiologica ; e ciò perchè la cocaina agisce, almeno entro certi limiti di dose e di durata d'azione, soltanto localmente e cioè sui segmenti immersi.

Sperimentando con la sol. 1:1000 si osservano periodi di movimenti intervallati da pause che vanno mano facendosi più lunghe ; l'immobilità quasi completa si raggiunge solo dopo 9 ore. L'eccitabilità si comporta anche qui nel modo sopradescritto, salvo naturalmente una proporzionale maggior persistenza ; occorrono infatti 24 ore di tempo per arrivare alla abolizione assoluta della eccitabilità muscolare. L'intossicazione segmentaria dà lo stesso risultato che si osserva con la sol. all' 1-2 °/₀. Così pure le prove con la stricnina e con il cloruro di bario.

Morfina.

Nelle soluzione di cloridrato di morfina all' 1 °/₀ il verme continua a muoversi per n po' di tempo, poi gradatamente e lentamente va' diminuendo le sue escursioni sino ad arrestarsi ; ciò potrebbe essere espressione di uno stato di sonno da diminuita od abolita eccitabilità dei gangli superiori o cerebroidi del verme. L'eccitabilità riflessa è invece

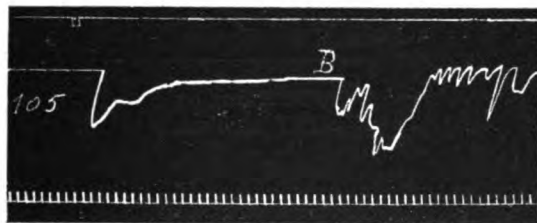



Fig. 5. — Verme morfinizzato, immerso in B in sol. di stricnina 1 : 1000

notevolissima, il chè riconferma che la morfina lascia la porzione inferiore della catena gangliare e le terminazioni sensitive integre Se in questo primo stadio s'immerge il verme in sol. di stricnina all' 1 : 1000 essa agisce sui gangli nervosi inferiori, non ancora paralizzati e determina vivaci movimenti (fig. 5B). Ma perdurando l'assorbimento della

morfina la paralisi si estende anche ai gangli inferiori e porta all'abolizione graduale della eccitabilità riflessa. Anche qui, come si è visto per la cocaina, l'eccitabilità muscolare scompare dopo quella cutanea. Un avvelenamento molto prolungato con morfina, dunque, non solo determina la paralisi di tutto il sistema nervoso centrale ma avvelena anche i tessuti muscolari privandoli della loro contrattilità e da ultimo uccide il verme.

Nella sol. 1 : 1000 i movimenti dopo breve tempo diminuiscono di ampiezza e di frequenza fino alla quasi completa immobilità, la quale è soltanto ed a lungo interrotta da gruppi di contrazioni sempre più diradate.

Cloroformio.

Fu fatto agire sotto forma di vapori in camera umida oppure in sol varie. Portato dalla sol. fisiologica nei vapori di cloroformio il lombrico si contrae bruscamente poi si rilascia e dopo un breve periodo di immobilità si raccorcia di nuovo e permane in questo stato, ineccitabile allo stimolo faradico portato tanto sulla cute che sui muscoli (fig. 6). Se poi il verme viene distaccato ed immerso in acqua anche dopo

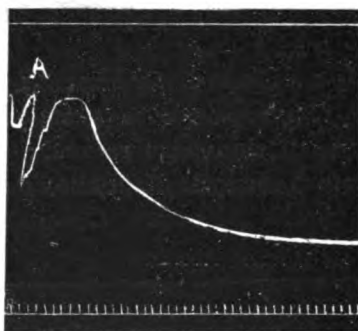



Fig. 6. — In A immersione nei vapori di cloroformio

30 ore non accenna ad alcuna ripresa di vitalità. Inoltre quando, il lombrico cloroformizzato viene immerso in sol. di cloruro di bario 3%, l'immobilità persiste; anche il muscolo è così alterato da perdere la sua peculiare capacità di contrazione.

In modo perfettamente uguale si comporta il lombrico, immerso in sol. di diluizione non superiore all' 1:400. Aggiungo che se si pratica l'intossicazione segmentaria, si osserva che la parte emersa si muove come se si trovasse in sol. fisiologica : il chè dimostra che il cloroformio, nel verme, agisce almeno per un certo tempo, solo sul segmento immerso

e non fa risentire la sua azione a distanza come avviene per altri veleni (ad es. stricnina); ciò conferma pienamente l'osservazione dell'ICARD.

Con soluzioni più diluite (dall' 1:500 all' 1:5000) il tracciato muta completamente. Il verme anzichè accorciarsi, come nelle esperienze precedenti, si allunga (fig. 7). L'allungamento è quasi immediato ed è

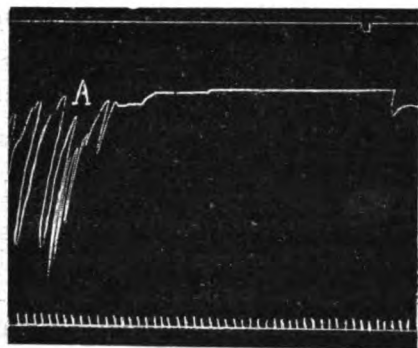



Fig. 7 — In A immersione in sol. di cloroformio 1: 1000.

seguito dalla completa immobilità dell'animale L'eccitabilità invece non è abolita di colpo; con la stimolazione faradica si osservano contrazioni debolissime che rapidamente si spengono. Le dimostrazione che il verme è solamente in istato di narcosi cloroformica la dà il fatto che se a cloroformizzazione completa lo si pone in terriccio umido od in acqua, dopo un tempo più o meno lungo si assiste al suo risveglio. Anche con queste soluz. relativamente diluite se a cloroformizzazione ottenuta s'immerge l'animale in sol. di stricnina all'1: 1000 non si nota alcum movimento, perchè evidentemente l'alcaloide non riesce ad eccitare un asse nervoso già paralizzato dal cloroformio. Infine se si toglie il verme dalla stricnina e lo si pone in cloruro di bario al 3 °/₀ l'animale presenta una serie di piccole contrazioni che finiscono in uno stato di accorciamento permanente; questo ci dimostra che la fibra muscolare è ancora perfettamente integra. L'intossicazione segmentaria determina gli stessi effetti già ricordati a proposito delle sol. più concentrate di cloroformio.

Quando si sperimenta invece con sol. a diluizione maggiore si hanno grafiche per nulla caratteristiche. Usando ad es, una sol. 1:10.000 si osservano periodi di immobilità intervallati da gruppi di movimenti dapprima vivacissimi, poi gradatamente diminuiti d'intensità; un tracciato in certo modo simile a quello che si ha con le sol. di cocaina all' 1:1000

* * *

Da questa prima serie di esperienze appare dunque che con la tecnica dell'immersione preconizzata da ICARD non si possono conseguire

risultati utilizzabili per la diagnosi tossicologica. Difatti è ben vero che in un primo tempo il verme si è dimostrato atto a sceverare le azioni caratteristiche dei singoli tossici (sulle terminazioni sensitive della cocaina, sul sistema nervoso centrale della stricnina e del cloroformio, sui gangli cerebroidi della morfina, sul muscolo del cloruro di bario), ma tale fase è stata in generale assai fuggevole e labile, subentrando prontamente l'azione danneggiante diffusa su tutti quanti gli elementi dei tessuti. Laddove tentandosi di affinare l'elettività di azione mediante la diminuzione delle concentrazioni appariva la scarsa sensibilità globale del preparato in modo che ben presto scompariva qualsiasi apprezzabile manifestazione.

Le reazioni osservate e specialmente quelle che hanno una manifestazione segmentaria, possono senza dubbio costituire buoni esperimenti farmacologici diretti alla dimostrazione generica delle poprietà dei farmaci; nè è escluso che questa tecnica possa anche essere ulteriormente sviluppata sia per l'indagine scientifica che per la dimostrazione didattica. Ma dal punto di vista che ci interessa, l'esito deve considerarsi come negativo. Difatti, ricorrendo al metodo dell'immersione del verme in una massa liquida che non può praticamente scendere sotto a 7-8 cm. non si consegue davvero un progresso in confronto con gli altri mezzi ben noti ed usuali dell'indagine bio-tossicologica, fondati sull'uso dei comuni animali di laboratorio; poichè le quantità necessarie sono notevolmente elevate, tali da non sottrarsi neppure alla banale identificazione chimica.

SECONDA SERIE DI ESPERIENZE.

(Avvelenamento per iniezione).

A risultati assai più soddisfacenti dal punto di vista della identificazione tossicologica, mi hanno portato le ricerche eseguite sul lombricus terrestris, iniettando direttamente il veleno nel corpo dell'animale

Il verme veniva messo in comunicazione con il chimografo nel modo a cui ho già accennato a proposito delle esperienze precedenti.

Con un ago sottilissimo tenuto quasi parallèlamente al piano cutaneo, iniettavo una goccia (pari presso a poco alla 20*a* parte di 1 cm. cubico) della soluzione con la quale volevo sperimentare Per evitare l'essicamento al quale il verme soggiace rapidamente e con grande facilità, gli si creò mediante un largo tubo di vetro, una opportuna camera umida.

Esperienze preliminari mi dimostrarono che non solo il sistema

della camera umida era perfettamente idoneo a mantenere in ottime condizioni di vitalità l'animale per un tempo lunghissimo (2-3 giorni), ma che anche l'iniezione di soluzione fisiologica non determinava in esso alcun disturbo; ed infatti il verme nonostante il trauma della puntura e della successiva introduzione di liquido continuava a muo-

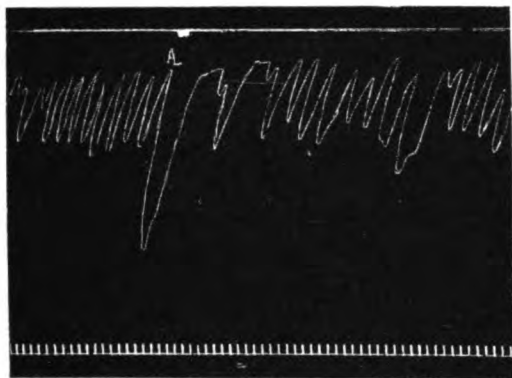



Fig. 8. — Tracciato del verme iniettato con sol, fisiologica. In A eccitamento.

versi con vivacità e con quel ritmo che è proprio e costante del verme semplicemente appeso alla leva scrivente. (fig 8)

Prima di procedere alla descrizione particolareggiata delle ricerche eseguite è necessario premettere alcune notizie sull'indirizzo da me seguito per giungere a caratterizzare i diversi tossici

Ho preso dapprima in esame le modificazioni che si verificavano nella motilità del verme, sottoposto all'azione di un determinato veleno. Come vedremo, i mutamenti che si osservano nei riguardi della motilità sono per qualche tossico notevolmente caratteristici. Ma di certo non basta sempre questo criterio per potere differenziare l'un veleno d'all'altro.

L'esame della eccitabilità, usando come stimolo la corrente faradica, con la tecnica già indicata nella prima parte di questo lavoro, permette una netta suddivisione dei tossici, in quanto mentre per alcuui essa è aumentata, per altri non si modifica, per altri ancora diminuisce sino a cessare.

Un altro elemento che è stato preso in considerazione perchè permette molto facilmente di orientare la diagnosi verso un gruppo di veleni piuttosto che verso un altro, è rappresentato dall'allungamento o rispettivamente dall'accorciamento subito dal corpo del verme. Vi sono difatti tossici (nicotina, veratrina, aconitina) che determinano uno

stato di accorciamento del lombrico, mentre ve ne sono altri (mor fina, atropina, stricnina) che provocano una distensione più o meno accentuata dello stesso

Infine è risultato utile agli scopi della individualizzazione dei vari veleni di osservare come si comporti il verme quando dopo essere stato iniettato venga immerso nell'acqua In queste condizioni il lombrico non più ostacolato dalla sospensione all'apparecchio scrivente, non più soggetto alla trazione per quanto leggiera esercitata dai contrappesi applicati alla leva, ha modo di assumere liberamente, quegli atteggiamenti conseguenti all'azione esercitata sul suo organismo dal veleno in esame.

Nella esposizione che segue considererò disgiuntamente per ciascun veleno, l'azione di dosi relativemente più forti da quella di dosi tenuissime poichè, come si vedrà, abbastanza spesso gli effetti nell'uno o nello altro caso sono notevolmente diversi.

Stricnina.

Ho cominciato, per questo come per gli altri veleni, con l'iniettare nel verme dosi di *5 centesimi di mgr.* Il solfato di stricnina introdotto in tale quantità, induce una assai rapida riduzione dell'ampiezza dei movimenti, i quali poi, dopo breve tempo, si arrestano del tutto per lunghi periodi Talora l'immobilità segue immediamente all'inoculazione dell'alcaloide.

Durante i periodi in cui il lombrico è immobile si può constatare ch'esso presenta un discreto allungamento, rispetto alla distensione massima raggiunta dall'animale prima dell'iniezione.

L'eccitabilità riflessa è lievemente diminuita, il che si deduce dal diverso grado di accorciamento subito dal verme eccitato con la corrente faradica, prima e dopo l'avvelenamento.

Dunque la stricnina in queste dosi determina uno stato di paralisi motoria, la quale è purtuttavia passeggiera, poichè il verme dopo alcune ore riprende la sua normale motilità. Questo effetto della intossicazione stricnica si ottiene anche nelle rane ma con dosi di alcaloide non inferiori ad 1 mgr. (FÜHNER. TAPPEINER).

Il lombrico iniettato e quindi posto in acqua continua per un certo tempo a muoversi ripiegandosi ed attorcigliandosi su se stesso E' al tatto di consistenza rigida. Eccitato con la semplice pressione di un ago reagisce vivamente. Subentra poi l'immobilità mentre persistono non molto mutate l'eccitabilità e la consistenza.

Con l'iniezione di dosi di 5 *millesimi di mgr.* si osservano dopo un

certo tempo (variabile tra i 20 ed i 50 minuti) dei lunghi periodi di immobilità

Quando il verme viene eccitato su di un tratto brevissimo di cute con la corrente faradica, esso reagisce con movimenti la cui frequenza è visibilmente esagerata ed ai quali fa poi seguito un nuovo periodo di immobilità (fig. 9). L'eccitabilità riflessa è dunque aumentata: anche

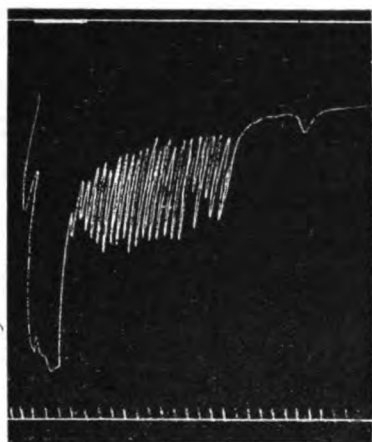



Fig. 9. — Eccitamento del verme iniettato con 5/1000 di mgr. di stricnina.

l'ampiezza dell'escursione provocata dall'eccitamento è assai maggiore dopo l'iniezione di stricnina che non prima. V'è in questo quadro dell'avvelenamento stricnico un elemento di notevolissima importanza per distinguere il tossico da moltri altri veleni di cui diremo in seguito. Ma il tracciato non è strettamente caratteristico della stricnina. Anche la morfina e l'atropina nelle stesse dosi (5 millesimi di mgr.) ci danno un tracciato molto simile. Si noti però che i movimenti accelerati a cui ho accennato si seguono con una certa regolarità sullo stesso piano, invece, come vedremo in seguito, per la morfina e l'atropina mentre il verme si contrae e si distende con rapidità, si allunga anche in toto dimodochè ne risulta in complesso una specie di V la cui branca ascendente è costituita dalla successione dei movimenti suddetti (Vedi fig. 14).

Un altra possibilità di distinguere la stricnina dalla morfina, anche a queste dosi ce l'offre la prova della iniezione del verme seguita dalla sua immersione in acqua. Mentre il lombrico iniettato con stricnina mostra, oltre ad una viva motilità, una spiccata tendenza a raggomitolarsi (come abbiamo già visto accadere anche per dosi più forti), il verme morfinizzato non fa che allungarsi ed accorciarsi senza posa.

Ma volendo facilitare la differenziazione dei due veleni è opportuno

ricorrere a dosi ancora più piccole perchè vedremo come la morfina offre allora a considerare altri caratteri abbastanza tipici.

Il tracciato che si ottiene con *5 decimillesimi di mgr.* è simile a quello ricordato precedentemente; anzi spesso l'evidenza dell'esagerata reflessività è ancor maggiore, perchè risulta più lungo il periodo dei movimenti a frequenza aumentata (fig 10). Anche qui, ad intervalli, si

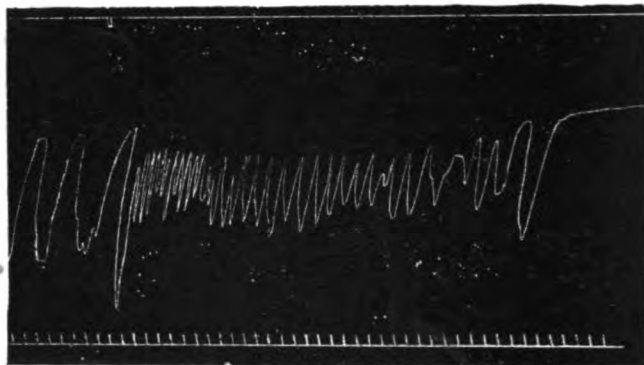



Fig. 10. — Eccitamento del verme iniettato con 5/10.000 di mgr. di stricnina (dopo 20 minuti).

hanno pause della motilità di durata notevole, il ché, come vedremo, non si riscontra nei tracciati ottenuti con la morfina a tali dosi.

Pure assai simile a quello già descritto è il comportamento del verme iniettato e posto in acqua : si osservano cioè i tipici attorciglia-menti del corpo del lombrico (fig. 11).

Fig. 11. — Verme iniettato con 5/10.000 di mgr. di stricnina e posto in acqua.

La sensibilità del verme alla stricnina è – come si scorge – notevolissima ; il classico reattivo biologico, la rana, presenta le tipiche convulsioni riflesse con dosi variabili da 1 centesimo (Tappeiner) a 3 centesimi di mgr. (Vibert). Secondo Vibert la dose di 4-5 millesimi di mgr. indicata da certi AA. come capace di dare un avvelenamento caratteristico è troppo scarsa. Ed anche Führer dice che le

piccole rane acquatiche cominciano a dare segni d'intossicazione da stricnina con dosi di 5 millesimi di mgr.; ma soltanto con 1 centesimo di mgr. i riflessi appaiono esagereti, mentre poi con 1 mgr. l'eccitamento si tramuta in paralisi. Ad ogni modo è ben diversa la utilizzabilità del verme, il quale è suscettibile, come abbiamo visto, di dimostrare una evidente esagerazione della eccitabilità riflessa ed il tipico attorcigliamento su se stesso con dosi di 5 decimillesimi di mgr. (gr. 0,0000005). Fatte le debite proporzioni tra il peso corporeo della rana (in media 25-30 gr), quello del lombrico (in media 50 ctgr.) si può anche asserire che quest'ultimo ha realmente una sensibilità verso la stricnina, e come vedremo, verso altri veleni, maggiore di quella presentata dalla rana.

Nicotina.

La sensibilità del lombrico per l'alcaloide del tabacco è pure accentuatissima.

L'iniezione di *5 centesimi di mgr.* di nicotina pura dà l'abolizione quasi immediata di ogni movimento. Dopo mezz'ora circa dall'iniezione la eccitabilità dell'animale alla corrente faradica è spenta.

Si può pure constatare che il verme subisce per effetto della nicotina un accorciamento che è evidentissimo nei primi tempi dell'avvelenamento e che poi va' molto lentamente diminuendo per causa della distensione passiva a cui l'animale in istato di paralisi soggiace.

Di ragguardevole importanza sono i dati che si possono raccogliere all'osservazione del verme iniettato con la nicotina e posto in acqua: esso diviene quasi immediatamente immobile, ineccitabile, di consistenza flaccida ed assume un atteggiamento a spirale o ad anello ora chiuso ora aperto oppure a doppio cerchio e la conserva per molto tempo (fig. 12). L'azione paralizzante della nicotina si protrae a lungo.

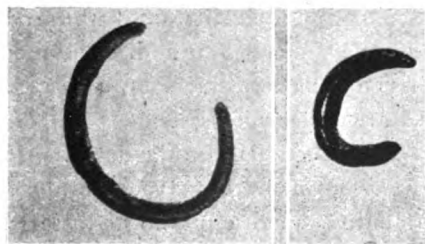



Fig. 12. — Verme iniettato con 5 centesimi di mgr. di nicotina e posto in acqua.

Con dosi minori (*5 millesimi di mgr.*) si ottiene un tracciato in tutto

simile al precedente, dove cioè si constata una quasi immediata paralisi motoria. Però in qualche caso tale paralisi non è completa; il verme riduce i suoi movimenti in modo da tradurli sul tracciato come ondulazioni or più or meno marcate. L'eccitabilità va, molto lentamente, diminuendo.

E' pur ben rilevabile un accorciamento iniziale del verme, a cui fa poi seguito una lenta e graduale distensione.

Infine il verme inoculato con 5 *decimillesimi di mgr.* (fig. 13 A) presenta ancora una fortissima diminuzione della motilità ed a tratti una serie più o meno lunga di piccoli movimenti che possono interpretarsi come dovuti a contrazioni fibrillari dei muscoli analoghe a quelle che si determinano nei muscoli della rana con dosi di 1/2 ad 1/4 di mgr. (HUSEMANN in Vibert). (fig. 13).

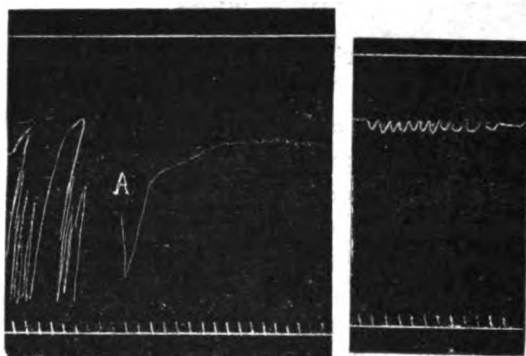



Fig. 13. — Verme iniettato in A con 5/10,000 di mgr di nicotina.

La diminuzione dell'eccitabilità è appena rilevabile; così pure l'accorciamento è lieve.

Il verme immerso in acqua dopo essere stato iniettato con dosi di nicotina di 5 millesimi o di 5 decimillesimi di mgr. ha all'inizio un breve periodo di vivacissimi movimenti i quali vanno poi presto spegnendosi sino alla immobilità. Questo stadio di eccitamento iniziale che non si nota nel verme fissato alla leva scrivente, trova esatto riscontro in ciò che si osserva nella rana, la quale con dosi di 1/4 di mgr. presenta un periodo di agitazione iniziale della durata di 3-4 minuti (HUSEMANN in VIBERT). L'eccitabilità dapprima molto viva, diminuisce in seguito, ma lentamente. L'atteggiamento è ancora quello caratteristico sopra descritto, cioè anulare o semianulare.

Morfina.

I tracciati ottenuti dal verme iniettato con cloridrato di morfina in dosi di *5 centesimi di mgr.* dimostrano con evidenza l'azione paraliz-

zante del veleno. Difatti i movimenti vanno rapidamente diminuendo di ampiezza e di frequenza; dopo un po' di tempo il verme presenta dei lunghi periodi di immobilità. Di pari passo va' diminuendo l'eccitabilità che in qualche caso giunge alla quasi completa abolizione. Questa spiccata diminuzione della eccitabilità è assai importante per distinguere l'avvelenamento per morfina da quello per stricnina che alle stesse dosi dà solo una lieve diminuzione della eccitabilità e da quello per atropina, dove non si verifica che una paralisi di moto.

Il verme morfinizzato si allunga sino dai primi istanti assai sensibilmente, il che basterebbe in mancanza d'altri caratteri a distinguere l'avvelenamento per morfina da quello per nicotina.

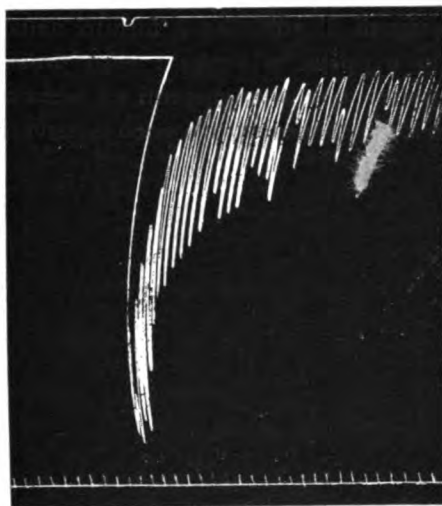



Fig. 14. — Eccitamento del verme iniettato con 5/1000 di mgr. di morfina.

Quando il verme venga iniettato e posto in acqua va' incontro a rapida diminuzione della motilità e della eccitabilità; dopo 30-50 minuti circa, appare per lunghissimi periodi di tempo, immobile; la consistenza è alquanto flaccida, il corpo è per lo più diritto o lievemente incurvato.

I caratteri del tracciato mutano assai quando la morfina viene somministrata in dosi di *5 millesimi di mgr.* Vibert ricorda che nella rana, la morfina produce degli accessi convulsivi analoghi a quelli da stricnina, dopo ciascuno dei quali l'eccitabilità riflessa del midollo è momentaneamente abolita. Nel verme osserviamo appunto fatti simili: il tracciato ricorda molto quello che ci dà l'animale trattato con 5 millesimi di mgr. di stricnina. I movimenti sono talora soppressi per lunghi periodi di tempo. Quando insorgono spontaneamente presentano sempre

una notevole diminuzione di ampiezza; mentre ciò non accade o per lo meno non è costante per la stricnina.

Quando poi si ecciti il verme con la corrente faradica, si vede che la reflessività è aumentata : l'animale continua per un certo tempo a muoversi velocemente per cui ne risulta un tracciato in cui le escursioni sono assai ravvicinate. Fa poi seguito un nuovo periodo di immobilità. E' bene ricordare ancora che il verme mentre compie le sue escursioni accelerate, si allunga pure, onde il tracciato somiglia in quel punto ad una V (fig. 14); nella stricnina invece, la serie dei movimenti frequenti avviene ad un livello pressochè costante.

Abbiamo già detto che un altro elemento che ci consente di differenziare il tracciato da morfina in dosi di 5 millesimi di mgr. da quello ottenuto con dosi uguali di stricnina è fornito dalla osservazione del verme morfinizzato e posto in acqua : esso presenta una mobilità continua, che si esplica con allungamenti ed accorciamenti successiv mentre che il corpo si mantiene diritto o poco incurvato (fig. 15). L'allun-

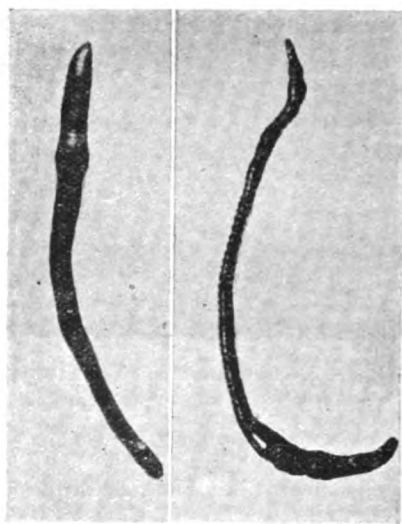



Fig. 15. — Verme iniettato con 5/1000 di mgr. di morfina e posto in acqua.

gamento del verme in seguito all'iniezione di morfina risulta evidente dai tracciati.

Più tipica è la grafica che si ha con dosi di *5 decimillesimi di mgr.* I movimenti sono ridotti moltissimo di ampiezza e nel tempo stesso aumentano notevolmente di frequenza. Non esistono di solito periodi di immobilità : in qualche caso si possono constatare brevissime soste che ben si differenziano dalle lunghe pause determinate dalla stricnina.

Con l'eccitamento faradico si ottiene ancora quel caratteristico succedersi di contrazioni avvicinate, di cui s'è detto, ma che qui naturalmente non fa che continuarsi indefinitamente nel successivo tracciato (fig. 16).

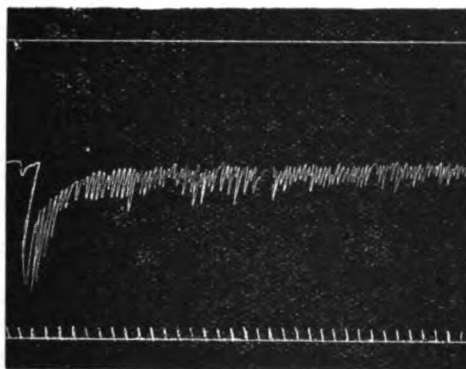



Fig. 16. — Eccitamento del verme iniettato con 5/10.000 di mgr. di morfina.

Nulla di nuovo v' è da rilevare a proposito del verme iniettato e posto in acqua, dove esso presenta il comportamento più sopra descritto.

L'identificazione della morfina col mezzo indicato può assumere, in qualche caso, un valore notevole perchè da una parte il reperto della sezione cadaverica negli avvelenamenti provocati da questo alcaloide non è caratteristico (STRASMANN) dall'altra la ricerca chimica non permette sempre di riconoscere il veleno poichè vi sono ptomaine che ne possono simularno le reazioni (VIBERT, CEVIDALLI), quindi sarebbe sempre necessario di preparare estratti assolutamente puri Infine la prova fisiotossica eseguita sulla rana, in cui dopo un periodo di depressione, si hanno attacchi tetanici spontanei o provocati da stimoli che perdurano vari giorni, richiede l'impiego di 2 centigrammi di morfina (HUSEMANN in VIBERT). Più sensibili sembrano dimostrarsi invece i topolini bianchi; secondo lo STRAUB iniettando ad uno di questi, del peso di 15 - 20 gr. cm. cubici 0,1 - 0,5 di una soluzione contenente 0,05 - 0,5 mgr. di cloridrato di morfina, si osserva un caratteristico atteggiamento della coda, la quale si curva sul dorso in forma di S.

Veratrina

Questo veleno è uno dei più facilmente identificabili.

Usando dosi di 5 *centesimi e di* 5 *millesimi di mgr.* si osserva che appena introdotto il tossico, il verme si raccorcia spiccatamente e diminuisce in grado notevole la sua motilità ; questa peró non arriva mai ad essere completamente abolita come succede per altri veleni alle stesse

dosi, ed in modo speciale per la nicotina, ma è modificata in modo da tradursi sul tracciato con un succedersi di brevi tratti ora curvi ora rettilinei (fig. 17). Anche per la veratrina, come per la nicotina, ma ancor

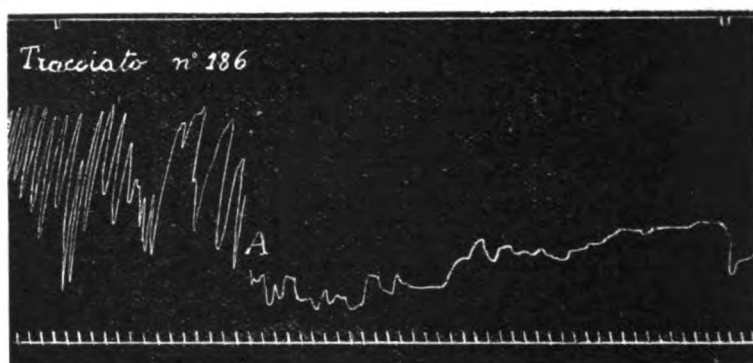



Fig. 17. — In A iniezione di 5/100 di mgr. di veratrina.

più lentamente, l'accorciamento iniziale va' diminuendo nei tempi successivi.

L'eccitabilità è rapidamente soppressa.

Il verme iniettato e posto in acqua ha un comportamento che non fa che confermare il reperto ottenuto sulla grafica : esso presenta dei movimenti lenti e poco ampi, ma continui. L'eccitabilità è rapidamente spenta. L'atteggiamento ricorda molto quello da nicotina (anulare, semianulare o simile) ma serve a distinguere i due tossici, oltre che la continua mobilità anche la consistenza che è normale nel verme avvelenato con veratrina, flaccida in quello nicotinizzato.

Ma l'elemento più caratteristico per individuare la veratrina lo troviamo usando dosi di 5 *decimillesimi di mgr.* Per questo, come per altri veleni, quanto più la dose usata è piccola tanto maggiormente risaltano le azioni specifiche del tossico poichè si aumentano le possibilità della fissazione sui diversi tessuti sui quali quello elettivamente agisce

Considerato nel suo insieme il tracciato presenta ancora i caratteri più sopra descritti : il lombrico si accorcia, in misure minore però che non si verifichi per le dosi più alte, e si muove lentamente descrivendo un tracciato a forti ondulazioni, nel quale fanno assolutamente difetto anche i più brevi periodi di sosta.

L'eccitabilità è lievemente diminuita all'inizio, e col tempo va esaurendosi ; ma ciò che è più importante è il modo singolare di reagire del verme sottoposto allo stimolo faradico. Esso si contrae rapidamente ma poi il rilasciamento avviene con molta lentezza di modo che ne risulta

una curva di contrazione assolutamente tipica (fig. 18). Questo fatto era già stato segnalato nella rana ed utilizzato come importante elemento di diagnosi. Ecco come il VIBERT descrive l'effetto spiccatissimo che la veratiina esercita sui muscoli striati della rana : « Allo stato normale una scossa elettrica provoca una contrazione muscolare che dura pochissimo tempo ; su di una rana veratrinizzata, la stessa scossa provoca una contrazione relativamente molto lunga (40 o 50 volte di più). Registrando a mezzo di un miografo il tracciato muscolare, si mette in evidenza tale differenza notevole · si vede inoltre che il raccorciamento del muscolo si fa rapidamente e che è soltanto il suo allungamento (la sua decontrazione)

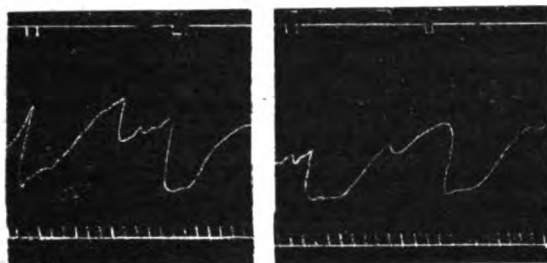



Fig 18. — Eccitamento del verme inniettato con 5/10.000 di mgr. di veratrina.

che è ritardata. Per ottenere questo risultato, basta iniettare alla rana 1 decimo di mgr. di veratrina.

Dal che risulta subito che nel verme si ottengono gli stessi risultat con dosi estremamente più piccole.

Il lombrico posto in acqua dopo che è stato iniettato con la veratrina, iresenta all'inizio dei movimenti, spesso a tipo di contorcimento, senzai alcuna tregua. La eccitabilità soltanto molto tardivamente è compromessa. La consistenzza si mantiene normale.

Atropina

L'atropina non esercita sul verme un'azione così caratteristica come abbiamo visto verificarsi per altri veleni.

Allorchè il solfato di atropina è iniettato in dosi di 5 *centesimi di mgr.* i movimenti del lombrico vengono immediatamente eforte mente diminuiti in modo che la grafica assume un'andamento a lievi ondulazioni. Il verme nello stesso tempo si allunga gradatamente sino a raggiungere una distensione massima assai maggiore di quella che si nota per altre sostanze tossiche. Con la forte diminuzione della motilità contrasta il fatto che la eccitabilità si mostra del tutto inalterata. Proseguendo la

sua azione, l'atropina abolisce poi in modo completo e per lunghissimi periodi di tempo ogni movimento. Questo effetto bene si spiega con la nota azione paralizzante dell'atropina sulle fibre muscolari liscie di molti animali ; non trattandosi dunque di una paralisi d'origine nervosa centrale si comprende anche come l'eccitabilità non debba essere diminuita.

Il verme immerso nell'acqua dopo essere stato atropinizzato diminuisce molto la sua motilità pur rimanendo eccitabile ; l'atteggiamento è simile a quello del verme iniettato con morfina ; il corpo, quando l'animale è fermo, è per lo più diritto o lievemente incurvato; la consistenza è normale.

Non molto diverso da quello già descritto è il tracciato che si ottiene con dosi di 5 *millesimi di mgr.* La motilità va diminuendo più lentamente. Tuttavia dopo un tempo vario, talora anche molto lungo, cominciano a comparire periodi di immobilità. L'eccitabilità riflessa, non solo non è diminuita come succede con le dosi più forti dell'alcaloide, ma appare anzi aumentata, tanto che in seguito allo stimolo faradico si hanno periodi di movimenti frequenti molto simili a quelli che si riscontrano nell'avvelenamento da morfina (fig. 19).

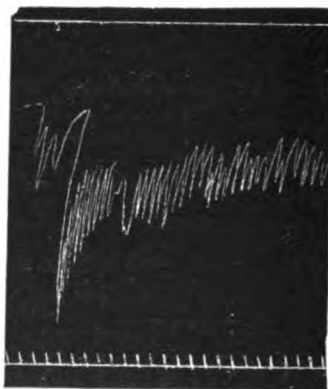



Fig. 19. — Eccitabilità del verme iniettato con 5/1000 di mgr. di atropina.

Il comportamento del verme posto in acqua dopo l'iniezione è in tutto simile a quello più sopra descritto per dosi di 5 centesimi di mgr.

Infine veniamo a considerare i tracciato ottenuto con dosi di 5 *deci millesimi di mgr* nei quali si constata che i movimenti sono sin dal l'inizio dell'avvelenamento ridotti di ampiezza ma per parecchio tempo continui. Piuttosto tardivamente compaiono di tanto in tanto brevi coste della motilità. A ciascuna di queste fa seguito un gruppo di movi-

menti che, appena rilevabili all'inizio vanno successivamente e regolarmente aumentando di ampiezza, sì da costituire nel loro insieme una specie di cono il cui apice si congiunge con il breve tratto rettilineo corrispondente al periodo di immobilità (fig. 20). Questo fatto che si

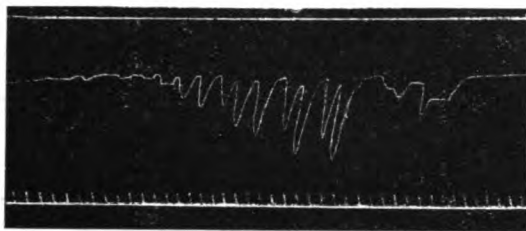



Fig. 20. — Verme iniettato con 5/10.000 di mgr. di atropina.

ripete con grande costanza è sufficiente a distinguere l'atropina dagli altri veleni da me presi in esame.

L'eccitabilità appare lievemente aumentata.

Immerso il lombrico nell'acqua dopo avergli iniettato 5 decimillesimi di mgr. di solfato di atropina non si osserva alcunchè di caratteristico: l'animale continua a muoversi in tutti i sensi, è molto eccitabile, di consistenza normale.

Da quanto si è detto risulta che l'azione determinata dall'atropina nel verme ricorda moltissimo quella provocata dalla morfina. Anzi i due veleni, usati in dosi di 5 millesimi di mgr. danno luogo a sintomi la cui identità è perfetta. Per cui, volendo giungere ad una diagnosi differenziale, bisogna o potere disporre di una dose un po' più forte (5 centesimi di mgr.) od aumentare la diluizione sino ad ottenere una soluzione all'1 : 100.000 (una goccia della quale corrisponde a 5 decimillesimi di mgr. dell'alcaloide). Allora, nel primo caso, mentre per la morfina notiamo una rapida diminuzione della eccitabilità e consistenza flaccida del corpo, per l'atropina sia l'eccitabilità che la consistenza restano inalterate. Nel secondo caso i tracciati dei 2 veleni hanno delle caratteristiche, su cui non ritorneremo, che ci consentiranno una differenziazione netta.

Aconitina

Non esistono per l'aconitina delle reazioni chimiche che permettano di riconoscerla con assoluta certezza; di più per ottenere il quadro abbastanza tipico dell'intossicazione negli animali occorrono dosi piuttosto forti: per potere ad es. osservare le manifestazioni caratteristiche sul cuore della rana è necessario l'impiego di quantità assai superiori a quelle

che di consueto si possono ricavare dal cadavere di un avvelenato, dimodochè non si deve molto contare su questo elemento di diagnosi (VIBERT).

Si comprende da ció quanto sarebbe importante di trovare un mezzo di indagine più sensibile e nello stesso tempo più sicuro.

Allorchè iniettiamo nel verme 5 *centesimi di mgr.* di aconitina assistiamo alla morte rapida dell'animale. Questi si accorcia spiccatamente all'inizio, riducendo anche i movimenti in modo da dare un tracciato a curve irregolari. Poi per il subentrare rapido di uno stato di paralisi l'animale si rilascia, viene stirato passivamente in alto finchè, allungatosi al massimo resta assolutamente inerte.

L'eccitabilità che sino dall'inizio va rapidamente diminuendo, finisce assai presto con l'essere esaurita.

Iniettato il verme e postolo in acqua si osserva che dopo un periodo iniziale di movimenti alquanto vivi specialmente della porzione caudale, esso va incontro allo stato di paralisi già accennato. Si nota poi quasi sempre nel verme già divenuto immobile, che la coda è più o meno arrotolata (fig. 21). La consistenza è flaccida.

Fig. 21. — Atteggiamento del verme iniettato con 5/100 di mgr. di aconitina.

Molto diverse sono le grafiche che si ricavano dal trattamento del verme con dosi di 5 *millesimi e 5 decimillesimi di mgr.* I movimenti appaiono abbastanza ridotti diampiezza ed in modo da costituire sul racciato una specie di festonatura ininterrotta ogni ansa della quale è provvista di diverse dentellature (fig. 22). Devesi inoltre rilevare che il verme non presenta mai la più piccola pausa nei suoi movimenti : questa constatazione trova riscontro nella sintomatologia osservata nel cane, il quale stando alla descrizione del Laborde (citato in VIBERT) mostra dopo l'iniezione di aconitina una certa inquietudine, s'agita, cambia di posto,

appena seduto o sdraiato si rialza, è insomma in uno stato di movimento incessante.

L'iniezione del verme e la successiva immersione di questo in acqua danno luogo a fatti simili a quelli su ricordati per le dosi di 5/100 di mgr. I movimenti sono per un breve periodo iniziale assai vivaci, poi vanno diminuendo di intensità ma continuano senza interruzione. L'eccitabilità è assai ridotta per dosi di 5 millesimi di mgr. e solo lievemente diminuita per dosi di 5 decimillesimi di mgr. Devesi notare che eccitando il verme con uno stimolo meccanico qualsiasi, specialmente se esercitato sull'estremo cefalico, esso reagisce arrotolando vivamente la coda e spesso mantiene questo atteggiamento anche per un po' di tempo dopo.

Esaminata così la sintomatologia presentata dal lumbricus terrestris

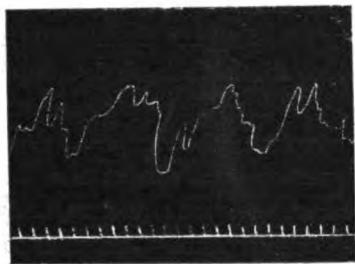



Fig. 22. — Verme iniettato con 5/10.000 di mgr di aconitina.

iniettato con alcuni dei veleni che più interessano dal punto di vista della tossicologia medico-legale, restano da fare alcune considerazioni sul valore che il mezzo d'indagine biologica da me studiato può assumere ne campo pratico.

Si deve ammettere che il verme rappresenta un reattivo biologicol di sensibilità squisita Nessun altro animale di quelli sino ad ora impiegati per ricerche tossicologiche, dimostra — per quanto mi risulta — di potere reagire in modo sufficientemente caratteristico per l'identificazione del veleno, a dosi così piccole come quelle che io ho usato nei miei esperimenti.

In generale l'azione dei tossici si è rivelata tanto più caratteristica quanto minore è stata la quantita di veleno iniettata nel verme.

Certo non si osserva per tutti i tossici un comportamente così tipico che ci permetta di identificarli in modo assolutamente sicuro. Ciò si verifica soltanto per qualcuna delle sostanze prese in considerazione: così il riuscire per esempio a porre in evidenza un tipo di reazione agli stimoli faradici come quello descritto per la veratrina, ci dà il modo di

escludere qualunque altro veleno, per lo meno di quelli coi quali ho sperimentato.

Più limitata è l'importanza diagnostica del particolare modo di rispondere alle eccitazioni elettriche che abbiamo osservato nella morfina, nella atropina e sebbene alquanto diverso, anche nella stricnina. In questi casi è ovvio che non ci si dovrà contentare di constatare nella grafica il comparire di uno degli accennati gruppi di contrazione ma si dovranno ricercare e considerare attentamente anche gli altri segni propri di ciascuna forma di avvelenamento.

Essendomi limitato a studiare soltanto alcuni veleni, non posso naturalmente escludere che anche altre sostanze tossiche provochino nel verme una reazione del tutto simile in seguito — agli stimoli faradici. E' anzi intuitivo che tutti quei veleni che hanno tra le loro caratteristiche di azione un aumento dell'eccitabilità dei centri nervosi e in questo caso quindi della catena gangliare daranno appunto un effetto uguale o molto simile. Anche la soluzione fisiologica può determinare un lieve aumento della eccitabilità che si riproduce sulla grafica — non però costantemente — con una breve successione di movimenti rapidi. Ciò deve ispirare molta cautela nell'apprezzamento diagnostico del fenomeno; se però questo non si verifica saremo sempre autorizzati ad escludere che si tratti di un veleno ad azione eccito motrice — come lo sono — nel caso nostro ed in determinate dosi — la stricnina, la morfina e l'atropina. Del resto anche gli altri mezzi di ricerca biologica solo raramente ci permettono di fare una diagnosi sicura.

Quando ad es. ricerchiamo sul gatto la reazione pupillare dell'atropina, dobbiamo pure aver presente che anche la cocaina e certe ptomaine hanno azione midriatica e che le pupille estremamente mobili dell'animale si dilatano per la collera o la paura. Ma la ricerca sarà sempre giustificata ed utile perchè se la midriasi dovesse mancare potremo con molta verosimiglianza escludere che il tossico in esame sia l'atropina.

Per facilitare la differenziazione tra i veleni di cui mi sono occupato ho creduto opportuno di sintetizzare i loro diversi caratteri nello specchio che segue. Dovendosi procedere ad una diagnosi tossicologica è consigliabile di partire dalla osservazione di uno dei fenomeni più sicuramente e facilmente rilevabili, ad es. dalla constatazione dell'allungamento o rispettivamente dell'accorciamento del verme. Seguendo questo criterio potremo subito alleggerire il compito di indagine eliminando un gruppo di tossici. Sarà poi necessario che la sol. in esame sia tale da non compromettere la vita del verme, non solo, ma da non sopprimerne neppure completamente la motilità e l'eccitabilità. Dimodochè se in una prima prova dovessimo constatare un effetto fortemente paralizzante od

addirittura letale per il verme, sarà indispensabile di procedere ad una diluizione della soluzione in esame, in modo da potere introdurre nell'animale quantità minime di tossico, le quali — come si è potuto constatare — meglio ci permettono di mettere in rilievo i vari caratteri del quadro d'avvelenamento.

S'intravvede pure la possibilità, col paragonare i tracciatitipo ottenuti con quantità note di veleno e le grafiche risultanti durante la ricerca, di valutare con una lata approssimazione la quantità del tos ssico di cui si dispone, poichè abbiamo visto che l'uso di dosi di diversa entità porta ad effetti la cui differenza è abbastanza apprezzabile.

In conclusione le ricerche da me praticate con la tecnica dell'insezione mi hanno convinto che preziose indicazioni si possono trarre dall'impiego del verme terrestre in tossicologia medico legale. Il lombrico potrà in qualche caso fornire elementi sufficienti per permetterci l'identificazione di un veleno e, ad ogni modo, costituirà sempre un mezzo molto idoneo per confermare i risultati diagnostici a cui sia le reazioni chimiche sia le altre più comuni prove fisiotossiche abbiano condotto il perito ; rappresenterà poi — almeno per ora — il solo mezzo diagnostico utilizzabile quando le dosi di veleno di cui si può disporre saranno tanto scarse da sottrarsi alla identificazione con i reattivi biologici sino ad oggi impiegati

Chiudo rivolgendo un ringraziamento vivo al Direttore dell'Istituto, Prof. LATTES, che mi ha suggerite queste ricerche e guidato per la loro esecuzione.

—

	Dosi	Motilità	Eccitabilità	Allungam. od accorciam.	Atteggiamento del verme avvelenato ed immerso in acqua
Stricnina	5/100 di mgr.	subito diminuita periodi di immobilità	lievem. dimin	allung.	si attorciglia e ripiega su se stesso — Molto eccitabile — consistenza piuttosto rigida.
	5/1000 di mgr.	periodi alternati d'immobilità e di movimenti ampî	assai aument.	idem.	idem
	5/10 000 di mgr.	idem	idem	idem	idem
Morfina	5/100 di mgr.	molto diminuita-periodi dimmobilità	molto dimin.	allung.	movimenti ed eccitabilità rapidam. diminuiti, consistenza flaccida — corpo diritto o poco incurvato.
	5/1000 di mgr.	periodi alternati d'immobil. e di movim. ampî	aument.	idem	movimenti continui di accorciam, od allungamento — corpo diritto o poco incurvato.
	5/10.000 di mgr.	movim. molto ridotti d'ampiezza i molto frequenti	aument.	idem	idem
Nicotina	5/100 di mgr.	abolita quasi subito	rapid. abolita	discreto accorc.	rapidam. immobile ed ineccitabile — consistenza flaccida — Atteggiam a spirale, ad anello a semicerchio.
	5/1000 di mgr.	moltissimo e rapidam. diminuit.	dimin	idem	periodo iniziale di eccitamento, poi immobilit à Attegiam. come sopra.
	5/10.000 di mgr.	molto e rapidam diminuita-piccoli movim. fibrillari	lievem. dimin	idem.	idem
Veratrina	5/100 di mgr.	moltissimo e rapidam diminuita mai immobilità	rapid. abolita	forte accorc.	movimenti lenti e poco ampi, ma continui — consistenza normale — atteggiam. ad anello o simile
	5/1000 di mgr.	idem	idem	idem	idem
	5/10 000 di mgr.	movimenti lenti e poco ampi, ma continui	dimin. reazione tipica	discreto accorc.	all'inizio movimenti a tipo di contorcimento — consistenza normale.

	Dosi	Motilità	Eccitabilità	Allungam. od accorciam.	Atteggiamento del verme avvelenato ed immerso in acqua
Atropina	5/100 di mgr.	rapidam diminuita-periodi di immobilità	inalterata	forte allung.	movimenti molto ridotti — consistenza normale — corpo diritto o lievem, incurvato.
	5/1000 di mgr.	diminuita lentam.periodi di immobilità	aument.	idem	idem
	5/10 000 di mgr.	movim. ridotti dizampiezza.	idem	discreto allung.	movimenti lievem. ridotti — eccitabilità viva — consistenza normale — non atteggiam. speciali.
Aconitina	5/100 di mgr.	molto e rapidam, diminuità sino alla abolizione.	rapid. abolita	forte accorc.	all'inizio movimenti vivi, poi immobilita la coda è arrotolata.
	5/1000 di mgr.	subito diminuita ma continua.	assai dimin.	idem	movimenti inizialmento assai vivaci, che vanno diminuendo d'intensita ma continuano senza sosta — coda arrotolata
	5/10.000 di mgr.	idem	dimin.	idem	idem

BIBLIOGRAFIA

ICARD. — Le ver de terre réactif physiologique des poisons. Son utilisation en physiologie expérimentale, *Marseille Médicale* 5-15 octobre 1923.

TIGERSTEDT. — *Handbuch der physiologischen Methodik.* Leipzig, 1911, vol. I, pag. 87-88.

FÜHNER.— In Abderhalden, *Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden.* Vol. V, Berlino, 1910.

TAPPEINER-PICCININI. — *Materia Medica e Farmacoterapia. Un. Tip.* Ed. Torinese, 1915.

VIBERT. — *Précis de toxicologie.* Paris, 1900, Ed. Baillière et fils.

STRASSMANN. — *Manuale di Medicina Legale. Un. Tip.* Ed. Tor.,1901.

BORRI, CEVIDALLI et LEONCINI. — *Trattato di Medicina Legale.* Ed. Vallardi, 1921. Vol. II.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E DI TERAPIA DELLA R.U. DI MESSINA
DIRETTORE: G. VINCI.

SULL'AZIONE VERMICIDA DELLA SANTONINA

PER

LUIGI TOCCO-TOCCO.

Introduzione.

L'esperienza popolare e la clinica ammettevano già che la santonina e il seme santo liberava l'intestino dagli ascaridi quando ancora gli studiosi non erano riusciti a provare, con l'esperimento diretto, se la santonina è dannosa per questi vermi, o a sapere, non potendo negare il fatto, come agiva per allontanarli, ancora vivi e vivaci, dal tubo digerente. La perplessità a riconoscere un'azione vermicida del seme santo e della santonina era giustificata dalle centenarie e contraddittorie esperienze degli autori che per molti secoli, a lunghi intervalli, si erano occupati di questo argomento.

Ad esperienze negative (REDI) fanno riscontro esperienze positive (BAGLIVI, KÜCHENMEISTER) molto dopo criticate (FALCK) e rigettate; poi, ancora più tardi, si susseguono esperienze che tendono a provare un'azione indiretta della santonina sugli ascaridi (BATTISTINI) non riconosciuta dagli altri (CALDERONE, MARFORI) e finalmente si ammette (COPPOLA) che la santonina « non esercita alcuna azione tossica sugli ascaridi, e che non può nemmeno considerarsi come vermifuga. Senza dubbio il meccanismo di azione della santonina come antielmintico consiste precisamente nei movimenti convulsivi che essa determina nei lombrichi ».

LO MONACO giustamente osservando nel 1896 che « la teoria di COPPOLA ammette implicitamente che la santonina è assorbita dagli elminti nei quali produce, al pari che negli altri animali, l'avvelena-

mento, che deve evidentemente, come in questi, finire con esito letale, quando l'azione è lunga e la dose forte » ripiglia lo studio di quest'argomento e con una serie d'esperienze riesce a farla agire in vitro sugli ascaridi. Egli ritiene che la santonina, passando dallo stomaco nell'intestino, viene in quest'ambiente alcalino precipitata estremamente suddivisa, e quindi in condizioni favorevolissime per agire sugli ascaridi, ed ivi assorbita da essi, esplica il suo potere vermicida, già da tutti i clinici ammesso.

Nel 1924 io (1) ripresi in esame questo argomento e, studiando comparativamente l'azione che la santonina esercita sugli artropodi e sui vermi, potei osservare che questo farmaco applicato finemente polverato di recente sui vermi, o somministrato agli artropodi, esplica azione tossica nei più degli animali sottoposti ad esperimento: in questi animali sensibili, scrivevo allora, esistono condizioni speciali che favoriscono la solubilità della santonina e quindi l'assorbimento.

Quali possano essere le *condizioni speciali* che favoriscono la solubilità della santonina e quindi l'assorbimento ho cercato di indagare con le ricerche che comunico in questa nota.

In esse ho usato come animale da esperimento le sole sanguisughe, che nei miei precedenti lavori si erano mostrate molto sensibili alla santonina, perchè facilmente conservabili e reperibili in ogni luogo e in ogni tempo e perchè in esse l'avvelenamento per santonina si rivela facilmente per la spiccata sintomatologia che presentano.

PARTIE SPERIMENTALE.

Se si spolvera santonina finamente polverata sopra una sanguisuga si osserva ben presto tutta la sintomatologia da me descritta in altra nota. E' evidente che la santonina, per produrre in questo verme l'avvelenamento che a lungo andare lo porta alla morte, deve trovare in esso condizioni tali per le quali passa in soluzione ed è assorbita. Ora essendo, come è noto, la santonina pochissimo solubile in acqua fredda (1 : 5000) viene fatto di chiederci come avviene che l'avvelenamento si inizia rapido e porta alla morte la sanguisuga in poche più di sei ore?

Per rispondere a questa domanda ho fatto una serie di ricerche che qui riporto in forma sommaria :

ESPERIENZA I. — Otto sanguisughe, digiune da mesi, vengono poste in 50 cmc. di acqua. Tratto tratto si assaggia la reazione del liquido ambiente con soluzione di tornasole, o di arancio metile appena acide.

Dopo 30'–60' circa si osserva che il liquido ambiente reagisce appena alcalino e dopo tempo (uno-due giorni) nettamente alcalino.

ESPERIENZA II. — Si lasciano otto sanguisughe digiune da mesi in poca acqua (25 cmc.) per due-tre giorni. Il liquido ambiente a poco a poco si colora in verdastro sporco e reagisce alcalino al tornasole e all'arancio metile. Si prelevano 10 cmc. di questo liquido e ad essi si aggiunge pochi cgr. di santonina finamente polverata e si sbatte a lungo.

Il liquido filtrato presenta le note reazioni della santonina.

Da queste due semplicissime esperienze risulta dunque che le secrezioni normali della sanguisuga sono alcaline e che la santonina può sciogliersi, sebbene in piccola quantità, nel lìquido che le contiene.

Una volta stabilito che le secrezioni normali della sanguisuga hanno reazione alcalina e possono sciogliere piccolissime quantità di santonina era necessario indagare come si comporta la secrezione mucosa di questi animali sia normalmente sia dopo che si spolvera santonina sopra di essi.

E' noto dalle mie ricerche precedentemente citate che se si spolvera santonina in polvere finissima sopra una sanguisuga dopo 10'–20' si inizia una secrezione mucosa in tutto il corpo che diventa abbondante dopo 30' circa. Coll'aumentare di questa secrezione si aggravano i sintomi dell'avvelenamento, l'animale resta immobile e, se il veleno non viene allontanato, lavandola abbondantemente in acqua, può presto morire.

Per stabilire il carattere della secrezione mucosa ho fatto un'altra serie di ricerche semplìcissime che quì riporto riassunte in un protocollo.

ESPERIENZA III. — Si preparano due soluzioni di tornasole (la pasta di tornasole del commercio era posta in sacchetto di tela, estratta con acqua, neutralizzata esattamente con acido acetico, portata e secchezza ed estratta con alcool) e di arancio metile esattamente neutre e in ciascuna soluzione si mettono alcune sanguisughe digiune da tempo e lavate abbondantemente in acqua corrente.

Contemporaneamente si preparano due soluzioni di tornasole e di arancio metile appena acide per acido cloridrico (o preparato queste soluzioni confrontandole con soluzioni tipo in un comparatore Walpole) e in ciascuna di esse si mettono alcune sanguisughe da tempo avate a lungo in acqua corrente.

Riassumo i risultati in questo quadro :

Tempo in minuti.	TORNASOLE.	ARANCIO METILE.
—	Neutra.	Neutra.
30′	Cambia nuançe ma è sempre neutra.	Cambia nuançe ma è sempre neutra.
45′	Paragonandola nel comparatore Walpole alla sol. tipo presenta un colore azzurrastro.	La nuançe è cambiata ma la tonalità gialla del liquido differisce di poco dalla sol. tipo.
60′	Attorno alle sanguisughe si nota colore nettamente azzurro; il restante liquido mantiene il colore primitivo.	La tonalità del liquido è spiccatamente giallastra attorno alle sanguisughe.

Tempo in minuti.	TORNASOLE.	ARANCIO METILE.
—	Acida.	Acida.
30′	La tonalità del liquido al comparatore W. è meno rossa.	Senza bisogno di comparatore si nota benissimo che la tonalità del liquido attorno alla sanguisuga è cambiata e tende al giallastro.
45′	Idem come sopra, ma più intensa.	Idem come sopra, ma più intensa.
60′	La tonalità del liquido è molto diversa dalla soluzione tipo e tende al violaceo.	La tonalità rossa del liquido è quasi sparita, al comparatore W. si nota un accenno di colore giallastro.
90′	La tonalità del liquido attorno alle sanguisughe è nettamente azzurra.	La tonalità del liquido attorno alle sanguisughe è nettamente gialla.

Da queste esperienze risulta dunque che la secrezione mucosa delle sanguisughe è alcalina e può prima neutralizzare e poi rendere alcaline soluzioni appena acide di tornasole e di arancio metile.

Restava da sapersi se le sanguisughe possono vivere a lungo in ambienti leggermente alcalini o acidi. Questa conoscenza mi era tanto più necessaria in quanto doveva precisare quale influenza potesse avere per questi animali la reazione dell'ambiente nell'avvelenamento da santonina.

Basandomi sulle molte esperienze fatte, e che non riporto perchè nulla presentano di interesse speciale, posso affermare che questi animali vivono bene e a lungo in soluzioni appena alcaline o in soluzioni debolmente acide (soluzioni di tornasole e di arancio metile rese appena alcaline o acide e confrontate a soluzioni tipo nel comparatore di WALPOLE). Osservo però che le soluzioni acide non si mantengono tali che per quattro-cinque ore giacchè lentamente, per la presenza delle sanguisughe, prima diventano neutre poi alcaline.

Premesse queste conoscenze ed essendomi noto dalle prime esperienze che mano mano che progredisce l'avvelenamento per santonina aumenta la secrezione mucosa di questi animali, era logico supporre che fosse precisamente la natura alcalina di questo muco che favorisse la soluzione di minime quantità di santonina e quindi l'assorbimento.

Secondo il mio modo di vedere tracce di santonina in polvere finissima vengono trattenute dalla secrezione mucosa che normalmente copre le sanguisughe. Questa secrezione, di reazione debolmente alcalina, scioglierebbe piccole quantità di santonina che perverrebbero all'assorbimento. Iniziatosi l'avvelenamento, aumenta la secrezione mucosa che favorisce lo sciogliersi e l'assorbimento di nuova santonina sino a portare l'animale a morte.

E se le cose stessero effettivamente in questi termini ne verrebbe di conseguenza che mettendo sanguisughe con santonina in un ambiente acido, capace di neutralizzare l'alcalinità della secrezione mucosa, questi animali vi dovrebbero vivere sinchè colla alcalinità del loro secreto non avessero neutralizzato l'acidità dell'ambiente. Una volta ciò avvenuto si dovrebbe iniziare l'avvelenamento che porta a morte le sanguisughe. Le sanguisughe, invece poste con santonina polverata in un ambiente neutro o appena alcalino, dovrebbero perire molto tempo prima di quelle poste con santonina in ambiente appena acido.

Gli esperimenti che qui riporto hanno confermato in modo non dubbio questo mio modo di vedere.

Ecco i protocolli di una sola serie di esperienze.

ESPERIENZA IV. — Si preparano delle soluzioni di tornasole e di arancio metile appena alcaline, neutre, appena acide, spiccatamente

acide per acido cloridrico. Queste ultime soluzioni sono fatte paragonandole, in comparatore Walpole, a soluzioni tipo di acidità 0,5'–0,25 ‰. Ad ogni 50 cmc. di soluzione si aggiunge santonina finamente polverata di recente in proporzione del 0,15 % e cinque sanguisughe digiune da tempo.

N° dei vasi	Soluzioni usate.	Morte delle sanguisughe dopo ore e minuti.	OSSERVAZIONI.
1	Sol. alcalina di tornasole.	Dopo 20' comincia la sintomatologia dell'avvelenamento. Muoiono in due ore e mezzo tre ore.	Siccome le sanguisughe tendono a sfuggire dalla soluzione e portarsi all'asciutto, la soluzione viene tratto tratto agitata ed esse ricacciata nel liquido.
2	Sol. alcalina di arancio metile.	Idem come sopra.	Idem come sopra.
3	Sol. neutra di tornasole.	La sintomatologia dell'avvelenamento si inizia dopo 30'-40'. La morte avviene dalla terza alla quarta ora.	L'esplodere dei primi sintomi dell'avvelenamento coincide col viraggio del colore della soluzione.
4	Sol. neutra di arancio di metile.	Idem come sopra.	I primi sintomi esplodòno come sopra, però il viraggio della soluzione non si precisa bene.
5	Sol. appena acida di tornasole.	La sintomatologia dell'avvelenamento si inizia molto tardi, dopo quasi un ora, e progredisce molto lentamento. Dopo quattro ore le sanguisughe sono im mote. Lasciate a sè muoiono Lavate si salvano.	L'esplodere dell'avvelenamento coincide col viraggio del colore della soluzione da rosso in violastro.
6	Sol. appena acida di arancio metile	Idem come sopra.	L'esplodere dell'avvelenamento coincide con lo sparire del colore rosso della soluzione.

N° dei vasi.	Soluzioni usate.	Morte delle sanguisughe dopo ore e minuti.	OSSERVAZIONI.
7	Sol. acida di tornasole.	La sintomatologia dell'avvelenamento non si nota che dopo più di un' ora ed è appena accennata. Dopo cinque-sei ore le sanguisughe sono sempre vive e allontanate dalla soluzione si salvano.	Pure agitando tratto tratto i recipienti la neutralizzazione della soluzione si ha appena accennata, e solo in vicinanza alle sanguisughe dopo più di un' ora e non è completa neanche dopo 5-6 ore.
8	Sol. acida di arancio metile.	Idem come sopra.	Idem come sopra.

Da queste esperienze risulta che l'avvelenamento per santonina si inizia presto e porta a morte tutte le sanguisughe in due-tre ore quando l'ambiente ha la stessa reazione della secrezione mucosa delle sanguisughe.

L'avvelenamento decorre poco più lento se l'ambiente è neutro, e si inizia solo quando la reazione ambiente comincia ad essere alcalina.

Quando poi l'ambiente ha un'acidità tale da poter neutralizzare l'alcalinità delle secrezioni mucose delle sanguisughe, l'avvelenamento si manifesta poco, a stento; od è appena accennato e decorre con grande lentezza, tale che dopo più di cinque-sei ore gli animali da esperimento sono sempre vivi, mentre nelle soluzioni alcaline sono morti in due-tre ore.

Considerazioni e conclusioni.

I risultati delle esperienze sopra riportate sono tanto evidenti da permettermi di fare alcune considerazioni che valgano a spiegarci come la santonina agisce in vitro sulle sanguisughe e quale sia il suo meccanismo d'azione.

La santonina applicata finamente polverata sulle sanguisughe manifesta presto il suo forte potere vermicida.

Questo deve necessariamente attribuirsi all'avvelenamento che i vermi subiscono assorbendo la santonina, la quale deve trovare condizioni favorevolissime per passare in soluzione.

Quali sono queste condizioni?

L'ambiente nel quale la santonina esplica azione vermicida deve essere di reazione alcalina ed infatti tutte le sanguisughe poste con

santonina in ambiente neutro od alcalino morirono rapidamente, mentre quelle poste in ambiente appena acido o acido sopravvissero a lungo e dopo sei ore di contatto col veleno poterono essere salvate lavandole in acqua corrente.

Prima condizione dunque perchè la santonina possa passare in soluzione ed essere assorbita è che si trovi in ambiente alcalino.

Ma se bene consideriamo le cose vediamo che queste condizioni si trovano realizzate nel miglior modo possibile sulle sanguisughe stesse.

È proprio nella secrezione mucosa, che riveste normalmente le sangüisughe, che la santonina trova l'ambiente ottimo per passare in soluzione, essere assorbita, esplicare la sua sintomatologia. Abbiamo infatti dimostrato, nel corso delle esperienze sopra riportate, che non solo questa secrezione ha reazione alcalina, ma che il liquido ambiente, dove hanno soggiornato per qualche tempo sanguisughe, ha la proprietà di sciogliere piccole quantità di santonina.

Secondo il mio modo di vedere la santonina esplicherebbe l'azione vermicida sulle sanguisughe a questo modo: la santonina finemente polverata di recente viene trattenuta dalla secrezione mucosa che ricopre questi animali. Questa secrezione, essendo viscida e vischiosa, ha appunto i caratteri più opportuni ed adatti per ricoprirsi di tutte le minime particelle di santonina che possono arrivare al suo contatto — non escludo però, ma non ho dati sperimentali per provarlo, che non possa esistere una qualche affinità tra sostanza e secrezione la quale attirerebbe a sè elettivamente tutte le minime quantità di santonina che possono trovarsi in soluzione — passarle lentamente in soluzione e farle assorbire da tutta la superficie del corpo. Come si inizia l'avvelenamento, le condizioni di solubilità della santonina aumentano con l'aumentare della secrezione mucosa, ed infatti, come questa secrezione si stabilisce abbondante, la sanguisuga si arresta definitivamente sopra la ventosa posteriore, si torce e si contorce, tenta in tutte le guise lanciare il corpo e la ventosa boccale in avanti.

Di guisa che, concludendo, le condizioni necessarie e più appropriate perchè la santonina passi in soluzione e venga assorbita si trovano realizzate sulle sanguisughe stesse.

Quanto ho detto vale naturalmente per le sole sanguisughe; esperienze che ho in corso mi permetteranno di riferire in una prossima nota quali condizioni sono necessarie perchè l'avvelenamento da santonina si esplichi negli ascaridi lombricoidi.

BIBLIOGRAFIA.

L. Tocco: *Arch. intern. de Pharmac. et de Therap.*, XXIX, 1924.

P. Marfori: *Annali di chimica e farmacol.*, X, 1889, pag. 152.

F. Coppola: *Archivio per le Scienze mediche*, XI, 1887.

F. Coppola, *Lo sperimentale*, 1887.

C. Calderone, *Arch. di Farmac. e Terap.*, I, 1893, pag. 513.

Lo Monaco: *Ibidem*, IV, 1896, pag. 238.

Lo Monaco: *Ibidem*, IV, 1896, pag. 309.

Lazzaro e Pitini: *Ibidem*, XI, 1903, pag. 280.
e tutti i lavori ivi citati.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA E TOSSICOLOGIA DELLA UNIVERSITA DI CAMERINO.

DIRETTO DAL PROF. ALFREDO CHISTONI.

SULLE CAUSE DELLA INTOSSICAZIONE CHE PUÒ DETERMINARE IL CALOMELANO SOMMINISTRATO A SCOPO PURGATIVO

PER

DR. RENZO BENIGNI

(Assistente).

Sebbene i farmacologi abbiano da tempo insistito sul fatto che il calomelano introdotto nello stomaco non può subire la parziale trasformazione in sublimato corrosivo, anche se la normale acidità del succo gastrico viene notevolmente aumentata, pure anche oggi la grande maggioranza dei medici riferisce all'influenza degli acidi e dei cloruri alcalini sul calomelano i fatti tossici che qualche volta si sono verificati per l'uso di tale medicamento. E' noto che non bastano soluzioni diluite di acido cloridrico per trasformare il calomelano in sublimato, ma che è necessario trattare il calomelano con soluzioni concentrate ed a caldo per poterne osservare la trasformazione, in condizioni cioè tali che non è mai possibile si verifichino in nessun organismo animale. Anche le soluzioni concentrate di cloruro di sodio restano senza effetto sul calomelano. E' noto invece che, passando dallo stomaco nell'intestino tenue, il calomelano subisce una trasformazione, sebbene parziale, per opera dei succhi enterico, pancreatico e della bile, succhi che hanno reazione alcalina. In tale ambiente alcalino, il calomelano si trasforma in protossido di mercurio il quale, combinandosi con le sostanze proteiche dà luogo ad un prodotto solubile. La bile, in vitro, è capace di trasformare in prodotto solubile il 5 % del calomelano introdottovi ed il succo pancreatico puro il 23 % (1).

(1) G. B. VALERI. *Alcune ricerche farmacologiche sul calomelano.* Arch. di Farmac e Terap. Vol. XIII ; 101 ; 1907.

Naturalmente nell'intestino la trasformazione percentuale del calomelano può variare da individuo ad individuo ed in certi casi giungere a cifre elevate e con tutta probabilità il grado di trasformazione del medicamento potrebbe essere in rapporto con la quantità di alcali presente nell'intestino.

Il POLLACCI (2) in un lungo lavoro sperimentale sostiene che nel tubo gastro-enterico non si forma sublimato corrosivo dal calomelano, ma invece si ha formazione di solfocianato di mercurio che si produce per contatto diretto del calomelano con l'acido solfocianico, presente non solo nella saliva come è a tutti noto, ma secondo quanto afferma il POLLACCI, anche in ogni parte dell'organismo, avendolo egli riscontrato nel cervello, midollo spinale, mucosa gastrica ed intestinale, sangue, latte, muscoli ed altri tessuti. Il calomelano, quindi, introdotto per via ipodermica o per via gastrica, comincia subito a reagire con l'acido solfocianico producendo solfocianato di mercurio, mercurio metallico e acido cloridrico e cloruro di potassio secondo che l'acido solfocianico trovasi libero o combinato col potassio. La ragione per cui non bisogna somministrare ai malati cibi salati, secondo il POLLACCI sta in ciò che il solfocianato di mercurio è solubilissimo nel cloruro di sodio. Le asserzioni del POLLACCI non hanno trovato conferma e neppure sostenitori, tanto è vero che i più recenti trattati di farmacologia non ne riportano neppure un cenno.

Sebbene non si possa ammettere una trasformazione del calomelano chimicamente puro in sublimato corrosivo nel tubo gastro enterico, è certo però che non rare volte i medici, somministrando calomelano a dose certamente purgativa, osservano fenomeni di intossicazione da mercurio e ciò che più interessa si è che tali fatti sono pure stati osservati in individui nei quali altre volte il calomelano aveva determinato effetto purgativo senza ombra di fatti tossici. Ciò dimostra che in tali individui, nel loro intestino, devono essersi determinate, in quella data occasione, peculiari condizioni per cui è venuta ad assorbirsi una parte del mercurio che poi ha provocata la intossicazione.

Occorrerebbe quindi poter conoscere in quali condizioni tali disturbi possono avverarsi, od in certo qual modo quali sono le cause che possono liberare dal calomelano del mercurio jone in tale quantità da produrre i fatti nocivi osservati dai medici.

* * *

E' stato con tale intento che ho eseguito le ricerche che verrò esponendo.

---

(2) E. POLLACCI. *Quali sono i cangiamenti chimici cui va soggetto il calomelano dopo essere stato introdotto nel nostro organismo etc.* Rend. R. Istit. Lombardo di Scienze e Lettere. Vol. 43; pag. 307; 1910.

In una prima serie di ricerche ho voluto vedere a quale concentrazione l'HCl è capace di agire sul calomelano per trasformarlo parzialmente in sublimato corrosivo. Inutile avvertire che il calomelano da me usato era purissimo e che corrispondeva pienamente a tutti i saggi di purezza voluti dalla IV edizione della F.U. del Regno d'Italia. Anche l'HCl usato era chimicamente puro per analisi.

La prima ricerca sperimentale è stata eseguita col seguente dispositivo: In una serie di tubi da saggio ho posto gr. 0,25 di calomelano, poi in ciascuno di essi ho aggiunto 10 cc. di HCl a diversa concentrazione e precisamente dall' 1 : 1000 fino al 10 : 100. In tutto undici tubi. Dopo aver agitata la miscela in ciascun tubo, la intiera serie è stata posta per tre ore in termostato a 38° C. e quindi di nuovo agitata e poi filtrata in altrettante provette con altrettanti piccoli filtri. I diversi filtrati sono stati sottoposti all'azione di una corrente di idrogeno solforato, ma in nessun campione si è avuto imbrunimento e tanto meno precipitato. Ciò dimostra che alla temperatura del corpo umano, soluzioni relativamente concentrate di HCl, quali certo non possono mai verificarsi nello stomaco in nessum caso, non modificano il calomelano e non viene in esse a liberarsi del mercurio jone.

Allora in tre tubi da saggio ho posto rispettivamente gr. 0,25 di calomelano e 10 cc. di HCl e precisamente nel primo HCl al 1 %, nel secondo al 5 %, nel terzo al 10 %.

Dopo agitazione della miscela ho portato i tre tubi alla ebollizione per 5 minuti. Dopo di ciò li ho lasciati raffreddare spontaneamente, agitati e filtrati. Nei filtrati ho ricercato la presenza di jone mercurio con corrente di acido solfidrico ottenendo il seguente risultato: Nella soluzione di HCl al 10 % si è avuto un fine precipitato nero che in piccola quantità si è poi raccolto nel fondo della provetta. Nel saggio contenente HCl al 5 % il precipitato è stato meno evidente ed in quello all'1 % si sono osservate solo tracce.

Da tutto quanto ho esposto risulta quindi che per trasformare il calomelano in modo d'aversi del mercurio libero od un sale dissociabile di esso ($HgCl_2$) occorrono soluzioni di HCl abbastanza concentrate e che mai come tali possono trovarsi nello stomaco, e per di più la temperatura di 38° C. non è sufficiente a provocare tale trasformazione essendo necessarie temperature assai elevate.

Ho creduto pertanto utile ripetere le ricerche non in soluzioni di puro HCl, ma nel contenuto gastrico normale di cane e nel contenuto modificato nel senso di renderlo più acido del normale. A tale scopo, ucciso un grosso cane in pieno periodo di digestione, ne ho tolto lo stomaco. Il contenuto gastrico ed il liquido di lavaggio dello stomaco fatto con soluzione fisiologica, viene diviso in due parti uguali. La reazione è acida al tornasole. Ad una di esse aggiungo gr. 0,20 di calomelano ed all'altra gr. 0,20 di calomelano e per di più 1 gr. di HCl concentrato e gr. 5 di NaCl purissimo. Agito a lungo le due miscele e

le porto in termostato a 38° C. per quattro ore. Dopo di ciò lascio raffreddare e filtro. Nei due filtrati non trovo presenza di jone mercurio, il che mi prova che il calomelano non si è trasformato in altri composti dissociabili.

Perciò anche nel contenuto gastrico normale di cane, di reazione acida o nel contenuto gastrico, artificialmente reso fortemente acidó e con alto contenuto di cloruro di sodio, non si hanno modificazioni del calomelano introdottovi, in modo da rendersi libero, anche in piccola quantità, del mercurio jone.

* * *

Come giustamente fa osservare il Gaglio (1) mentre sono state fatte tante discussioni sulla trasformazione del calomelano nello stomaco, non è stata presa in sufficiente considerazione la trasformazione che può subire nell'intestino, in quanto che esso è facilmente decomponibile dagli alcalini. E' noto che i carbonati alcalini anneriscono il calomelano perchè si forma ossido mercuroso insolubile, ma che per effetto del calore od anche solo della luce si decompone in breve in ossido mercurico e mercurio metallico.

Infatti io ho potuto convincermi di ciò con una semplice esperienza. Si pone in un tubo da saggio una soluzione alcalina di carbonato sodico al 10 % e vi si aggiungono pochi cgr. di calomelano purissimo. Si agita ed il miscuglio acquista un colore oscuro. Si filtra ed il filtrato limpido viene sottoposto a corrente di idrogeno solforato. Immediatamente si ha la formazione di precipitato nero di solfuro di mercurio. Ciò dimostra che anche per la semplice azione dei carbonati alcalini si ottiene dal calomelano un composto in parte dissociabile per cui viene ad ottenersi del mercurio libero, probabilmente jone mercurico.

Ma l'ossido mercuroso si combina facilmente con l'albumina dando luogo, come per primo ha supposto il Buchheim, ad albuminato di protossido di mercurio che si ritiene in parte solubile sia per eccesso di albumina, sia per opera dei cloruri alcalini. Sono riuscito a dimostrare, come ora esporrò, che anche in presenza di albumina si produce un composto di mercurio dissociabile o in ogni modo si ottiene mercurio libero. Infatti se si prende un tubo da saggio e vi si introducono gr. 0,25 di calomelano, 1 cc. di albume d'uovo fresco, 3 cc. di H_2O ed una o due gocce di soluzione concentrata di carbonato sodico indi si agita e si lascia per un'ora alla temperatura di 37° C., od anche alla temperatura ambiente, poi si filtra, nel filtrato, limpido, si riesce a porre in evidenza il mercurio con una corrente di idrogeno solforato. Quindi anche in presenza di albumina e carbonati alcalini, si forma ossido mercuroso, ma ciò che interessa si è che si rende libero del mercurio dal calomelano

---

(1) G. Gaglio. *Trattato di Farmacologia e Terapia*, 1920.

per opera di altri composti dissociabili che da esso derivano. Ho potuto anche osservare che tanto più è la quantità di alcali aggiunta alla miscela, maggiore è la quantità di ossido mercuroso ed albuminato di ossido mercuroso che si forma e maggiore poi la quantità di solfuro di mercurio che si ottiene facendo gorgogliare acido solfidrico nel filtrato.

Ho voluto anche osservare se la stessa cosa si riscontra aggiungendo calomelano al contenuto intestinale. Ucciso un cane, ho tolto il contenuto dell'intestino tenue, raschiando la mucosa con una spatola e lavando l'interno dell'intestino con una soluzione fisiologica. Ho versato tale poltiglia, di reazione alcalina al tornasole, in un matraccio, aggiungendovi un po' di bile ed un po' di poltiglia di pancreas dello stesso animale. Dopo di ciò ho introdotto nel matraccio gr. 0,25 di calomelano, agitando fortemente, ed ho posto il tutto in termostato a 37° C. Già dopo un'ora la poltiglia ha assunto un colorito ardesiaco. Dopo quattro ore la pongo su di un filtro di carta ed il filtrato, limpido, viene sottoposto ad una corrente di idrogeno solforato, ma non si osserva il benchè minimo precipitato di solfuro di mercurio. Perciò in vitro nelle poltiglie intestinali normali di cane, il calomelano si trasforma, ma non si riesce a mettere in evidenza mercurio libero o prodotti dissociabili di mercurio.

Fatto questo, ho voluto vedere cosa avvenga del calomelano posto in contatto di poltiglie rese abnormemente alcaline mediante aggiunta di carbonato sodico. Perciò ho ripetuto delle esperienze come la precedente rendendo notevolmente alcalina la poltiglia con soluzione di carbonato sodico, ed ho potuto ottenere, nel filtrato, precipitazione di solfuro di mercurio, tanto più abbondante quanto più abbondante era la quantità di carbonato sodico aggiunto alla poltiglia.

Questo risultato mi fa pensare che nel contenuto intestinale a reazione più alcalina della normale, il calomelano trovi le condizioni necessarie per trasformarsi in modo di dare altri composti dissociabili in cui sia facile porre in evidenza il mercurio jone.

* * *

Dimostrato che nel contenuto gastrico di cane normale e nel contenuto reso più acido per aggiunta di HCl, il calomelano non subisce decomposizioni, per cui venga a mettersi in evidenza mercurio jone, e dimostrato che anche nel contenuto intestinale normale non si riesce a svelare mercurio allo stato di jone, mentre ciò avviene nel contenuto intestinale abnormemente reso alcalino con carbonato sodico, e che la presenza di mercurio libero è tanto maggiore quanto maggiore è la alcalinità, così mi sono chiesto se i fatti tossici osservati dai clinici dopo somministrazione di calomelano, non siano piuttosto da imputarsi alla abnorme alcalinità del succo intestinale.

In tali condizioni anormali potrebbe benissimo darsi che un prodotto mercuriale solubile, e dissociabile, originatosi dalla scomposizione del calomelano, venisse assorbito in quantità tale da determinare intossicazione da mercurio. Ma, come è noto, i medici raccomandano agli infermi, dopo somministrazione di calomelano, di astenersi di introdurre nello stomaco bevande acide o cibi salati, e ciò può essere giusto, non per le modificazioni che tali bevande possono indurre nel calomelano che trovasi nello stomaco, ma su quello che passa nell' intestino per modificazioni apportate alla reazione del contenuto enterico.

Il PAWLOW (1) nelle sue esperienze classiche, ha dimostrato che introducendo soluzioni acide nella cavità gastrica principale, il pancreas rimane in riposo ; ma se si porta l'acido nella estremità pilorica, si manifesta tosto una secrezione pancreatica, solamente ogni-qualvolta l'acido penetra nel duodeno. Si tratta di un fenomeno riflesso. Siccome è nei mezzi alcalini che i fermenti pancreatici manifestano la loro attività, così il pancreas neutralizza con i suoi alcali l'acidità del chimo acido, in modo da creare una reazione adatta all'azione dei suoi fermenti. Il succo gastrico acido, in ragione della sua acidità e proporzionalmente ad essa, provoca una secrezione del succo pancreatico alcalino. Il succo pancreatico, dice il PAWLOW, secreto sotto l'influenza di soluzioni acide, è assai più ricco in elementi inorganici ed il suo valore alcalino è assai elevato.

Il PAWLOW ci ha quindi dimostrato che a causa di un contenuto gastrico troppo acido, per reazione, si ottiene un succo enterico più alcalino del normale. Potrebbe quindi darsi che la introduzione di liquidi acidi nello stomaco di individui, cui è stato somministrato calomelano, determini in speciali condizioni, un aumento della alcalinità del contenuto enterico tale da produrre decomposizione del calomelano in grande quantità e susseguente produzione di composti di mercurio solubili e dissociabili ed atti ad essere assorbiti dall'intestino in notevole quantità e con una certa velocità di assorbimento.

Oltre che prendere in considerazione il fattore alcalinità, che ha certo una grande importanza, credo che si debba tener conto anche di un altro fattore e cioè della quantità di sostanze albuminoidi presenti nel miscuglio. Infatti se in tubi da saggio, contenenti quantità uguali di calomelano e di soluzione alcalina di carbonato sodico, si aggiungono quantità crescenti di albume d'uovo e si agita, poi, dopo un certo tempo si filtra, si nota che la quantità di jone mercurio riscontrato nel filtrato è inversamente proporzionale alla quantità di albumina aggiunta, al punto che se la quantità di albumina è elevata, nel filtrato l'azione dell'idrogeno solforato può rima-

---

(1) J. P. PAWLOW. *Le Travail des glandes digestives*, Masson et. C°, Paris. 1901.

nere senza effetto. Ciò sta a dimostrare che la presenza di albumina ostacola in certo qual modo la formazione di composti dissociabili di mercurio. Questa concomitante azione dell'albumina e dell'alcali sul calomelano è di grande importanza perchè spiega come in liquidi discretamente alcalini, in presenza di poca albumina possa avverarsi una maggior decomposizione del calomelano, che non in liquidi fortemente alcalini in presenza di grandi quantità di albumina. Con congrue dosi di albumina e di alcali, il calomelano può non dare prodotti dissociabili nei quali sia facile porre in evidenza l'jone mercurio. Per opera dell'alcali si ha formazione di un prodotto solubile e dissociabile, ma l'jone mercurio in presenza di eccesso di sostanze proteiche viene fissato, cosa del resto nota, sotto forma di composti non dissociabili.

E' questione di equilibrio di quantità tra proteici ed alcali e se per una qualsiasi circostanza aumentano gli alcali o diminuiscono i proteici, l'equilibrio si rompe e si ha formazione di composti dissociabili di mercurio.

Indispensabile è la presenza di alcali, poichè se in sostituzione di alcali si pone NaCl anche in dosi forti non si ha formazione di prodotti mercuriali dissociabili.

* * *

Dopo il risultato delle sovra esposte esperienze eseguite in vitro, ho creduto opportuno ripetere le ricerche in vivo e precisamente sopra cani, animali che meglio degli erbivori si prestano per questo genere di ricerche. Le ricerche in vivo hanno pienamente confermato quanto avevo osservato in vitro.

Infatti in cani normali, somministrando 1 gr. di calomelano per os, indi sacrificando l'animale dopo tempo variabile da 1 a 5 ore, non ho potuto riscontrare nel contenuto gastrico o nel contenuto intestinale, presenza di mercurio libero o prodotti dissociabili di esso; e così pure nello stomaco di cane, reso iperacido per somministrazione contemporanea al calomelano di limonea cloridrica all'1 %. Rendendo iperacido il succo gastrico e di conseguenza aumentando per via riflessa l'alcalinità del succo enterico, secondo quanto ha dimostrato il PAWLOW, mi aspettavo di trovare nell'intestino presenza di composti dissociabili di mercurio e quindi mercurio-jone, ma tale dimostrazione è stata negativa. Forse l'aumento della quantità di alcali ottenuta nell'intestino per via riflessa, non è sufficiente a rompere l'equilibrio tra alcali e sostanze proteiche, sopra menzionato, per cui viene a rendersi possibile la formazione di composti mercuriali dissociabili. E che sia questa la ragione della mancata presenza di mercurio-jone nel contenuto intestinale in tali condizioni sperimentali, lo prova il fatto che se artificialmente aumentiamo la quantità di alcali nell'intestino allora si dimostra all'evidenza presenza

di jone mercurio nel contenuto intestinale. Infatti se ad un cane di medio peso si estrae un'ansa della prima porzione dell'intestino tenue, e vi si introduce, mediante una siringa a grosso ago, un gr. di calomelano in sospensione in H_2O, poi dopo 15' o 20', a monte, si introducono gr. 0,50 di carbonato sodico disciolto in 10 c.c. di H_2O e si sacrifica l'animale dopo 2-4 ore, nel contenuto intestinale si pone in evidenza il mercurio-jone. Ciò dimostra che anche in vivo è necessaria la presenza di una certa quantità di alcali perchè avvenga la formazione di composti dissociabili di mercurio.

D'altra parte se si ripete la esperienza come la precedente, introducendo nell'ansa intestinale 1 gr. di calomelano, 20 c.c. di albume d'uovo fresco e gr. 0,50 di carbonato sodico, poi si sacrifica l'animale dopo due ore, se si fa gorgogliare gas solfidrico nel filtrato del contenuto intestinale, non si riscontra presenza di jone-mercurio. Quindi anche in vivo si è riscontrato quanto avevo prima riscontrato in vitro e cioè che la presenza nell'intestino di dosi elevate di albumina impedisce la formazione di composti dissociabili di mercurio.

* * *

Dal complesso delle esperienze si può trarre la conclusione che i fenomeni tossici che talvolta vengono riscontrati in individui ai quali è stato somministrato calomelano a scopo purgativo, non dipendono dal fatto che una parte della sostanza si è trasformata in un composto dissociabile per opera di acidi o di cloruro di sodio nello stomaco, ma sono in rapporto ad una aumentata alcalinità del succo enterico od alla diminuita presenza in esso di proteici, ad ogni modo ad una rottura di equilibrio tra alcali e proteici nell'intestino, per cui viene a determinarsi formazione di prodotti dissociabili e quindi di mercurio jone, assorbibili in quantità sufficiente e con sufficiente velocità d'assorbimento.

Per potere affermare ciò occorrerebbe dimostrare, in animali con il contenuto intestinale posto nelle condizioni su esposte, che il prodotto dissociabile di mercurio formatosi, è capace di provocare intossicazione ed in modo particolare quelle lesioni negli organi ben note negli avvelenamenti da sali dissociabili di mercurio.

* * *

Ed infatti, continuando le ricerche in vivo, in una serie di due animali, ho introdotto il calomelano nel duodeno dopo avervi fatto pervenire dell'albume d'uovo e una soluzione alcalina di carbonato sodico, ed in una serie di tre ho introdotto il calomelano dopo aver solo alcalinizzato senza aggiunta di albume d'uovo. Nei giorni precedenti all'esperimento gli animali erano alimentati con pane e carne cruda.

Le esperienze venivano fatte nel seguente modo; gli animali ventiquattro ore circa, dopo il pasto, e ciò per trovarmi sempre in uguali condizioni sperimentali, venivano legati sull'apparecchio di contenzione e narcotizzati con etere solforico purissimo. Aperto l'addome con una piccola breccia, osservando asepsi ed antisepsi, estraevo un tratto del duodeno e, mediante una siringa munita di un piccolo trequarti introducevo nel lume intestinale 10 c.c. di albume d'uovo, 5 c.c. di carbonato sodico al 10 % e subito dopo 1 gr. di calomelano sospeso in 5 c.c d'H_2O, oppure solo il carbonato sodico ed il calomelano nelle dosi anzidette. Fatto ciò rapidamente suturavo con un punto la parete intestinale nel luogo di iniezione, poi la ferita addominale. La narcosi eterea veniva sospesa e ben presto l'animale si rimetteva in condizioni normali

Nei due casi nei quali ho introdotto nell'intestino albumina, alcali e calomelano, non ho avuto la morte dell'animale; dopo circa 24 ore, una o due abbondanti scariche alvine poltacee, di colore oscuro; all'esame delle urine solo tracce di albumina dovute più che altro all'atto operativo. In tre o quattro giorni ogni fatto anormale scompariva.

Non così è avvenuto per i tre cani ai quali ho introdotto il calomelano nel duodeno dopo avervi fatto arrivare solo la soluzione alcalina. Uno mi è morto prima delle 24 ore, ma di questo non ne ho tenuto conto. Gli altri due dopo essersi completamente rimessi dalla narcosi eterea, e ristabiliti, dopo circa 24 ore si sono mostrati abbattuti e preferivano stare accovacciati; inoltre presentavano continui tremori; temperatura rettale tra i 37° e 37°,5.

Si sono verificate scariche diarroiche oscure, ma con strie sanguigne ben evidenti ed una volta in uno dei due animali, dopo le 48 ore, una scarica mista a sangue rosso vivo. Urine scarse, con albumina dal 2 al 3 ‰. Un cane è stato trovato morto al terzo giorno e l'altro dopo il quarto. Ho proceduto subito all'autopsia che in entrambi i casi mi ha dato il seguente risultato.

All'apertura dell'addome si notano i visceri addominali alquanto congesti. Non si riscontrano che tenui aderenze dell'omento alla ferita addominale. Non vi è versamento nel cavo peritoneale, nè fatti che stiano a provare flogosi. L'esame macroscopico dei singoli organi ha dimostrato quanto segue.

Stomaco completamente vuoto di contenuto alimentare, con la mucosa quasi uniformemente iperemica.

Fegato notevolmente congesto con la cistifellea turgida di bile.

Milza aumentata di volume e fortemente congesta.

Intestino fortemente iperemico nella porzione duodenale e nella prima parte dell'ileo. L'iperemia va decrescendo verso il grosso intestino.

Nella sottomucosa, specialmente del tenue, si osservano qua e là

delle emorragie, alcune puntiformi, altre di maggiore grandezza fino a qualche millimetro di diametro. In alcuni punti sono confluenti in modo da dare l'aspetto di una chiazza emorragica.

Pancreas iperemico con qualche emorragia in seno al parenchima.

Reni congesti ed aumentati di volume. Al taglio la corticale si nota alquanto tumida e si scorgono ad occhio nudo i glomeruli iperemici.

Capsule surrenali. Anch'esse si mostrano iperemiche.

Vescica urinaria contiene pochi c.c. di liquido, ed esaminata al microscopio vi si nota presenza di emazie ben conservate ed elementi renali in via di disfacimento.

Prelevo pezzi di rene e di intestino tenue per l'esame istologico, essendo questi gli organi che hanno dimostrato le maggiori lesioni macroscopicamente ed anche perchè è noto che nelle intossicazioni mercuriali essi sono quelli che più risentono l'azione del veleno mostrando lesioni caratteristiche.

I pezzi prelevati sono stati fissati in Zencker, poi inclusi in paraffina, sezionati al microtomo e colorati con emallume ed eosina.

All'esame microscopico delle sezioni di rene si notano numerose emorragie intra ed extra-lobulari ed in alcuni tratti si vedono gli epiteli dei tuboli contorti, distaccati, rigonfi, torbidi ed in qualche punto tali epiteli degenerati ed alterati formano come una massa omogenea assomigliante ad un cilindro.

I glomeruli del Malpighi in buona parte congesti, mostrano anche piccole emorragie della capsula.

L'intestino tenue fa vedere la mucosa in alcuni punti ben conservata, ed in altri ulcerata in modo da lasciare scoperta la muscolaris mucosae. In altri punti si osservano ecchimosi ed emorragie sottomucose I vasi sanguigni si mostrano congesti ; i follicoli solitari turgidi con emorragie puntiformi.

Come è facile notare le alterazioni riscontrate all'esame istologico del rene e dell'intestino sono del tutto simili a quelle che si producono nelle intossicazioni mercuriali, e quelle dell'intestino in particolar modo, nulla hanno a che fare con le modificazioni dell'attività funzionale riscontrate da ROMANO (5) nell'intestino di cane dopo somministrazione orale di calomelano in dose purgativa, consistenti in aumento della secrezione mucosa ed in una modica chemiotassi positiva dei linfociti nel connettivo interstiziale.

Mai il ROMANO ebbe ad osservare fenomeni reattivi.

Resta quindi provato che anche in *vivo*, come già si è dimostrato in *vitro*, il calomelano in contatto di liquidi intestinali abnormemente alcalini dà luogo a formazione di composti di mercurio dissociabili che, assorbiti determinano intossicazione mercuriale.

---

(1) A. ROMANO. *Archives Ital. de Biologie*, Tome LVII ; 121 ; 1912.

Credo quindi poter confermare che i fenomeni tossici da mercurio, che qualche volta sono stati riscontrati in persone che hanno ingerito dosi purgative di calomelano, sono da imputarsi ad una aumentata alcalinità del succo enterico o ad una diminuita presenza di sostanze proteiche, per cui vengono a formarsi prodotti dissociabili di mercurio, che assorbiti con sufficiente velocità sono in grado di determinare intossicazione mercuriale.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE THÉRAPEUTIQUE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN. — DIRECTEUR : M. IDE.

LE SORT DU BROMURE INJECTÉ DANS LE SANG

par

le Dr MAURICE APPELMANS.

Historique.

La théorie pharmacodynamique du bromure a été fondée par NENCKI et SCHOUMOW-SIMANOWSKI en 1894 (4) : elle a reçu, durant les douze années suivantes, sa forme physiologique qui semblait devoir être définitive.

On admet (5) que le brome est retenu au début d'une cure par l'organisme et remplace dans le sang une certaine proportion des atomes chlore (7) (9) (13).

Après 10 à 15 jours d'administration quotidienne d'une même dose, on admet que l'élimination a atteint un palier (6) qui contre-balance l'absorption : il y a « *équilibre du brome* », le « Bromgleichgewicht » de BÜCHNER (7).

Le rein est réputé *filtre indifférent* aux ions Cl et Br : idée exprimée par VON WYSS en 1906 (12).

Le brome ne montre *aucune affinité tissulaire* pour un organe spécial et remplace seulement les ions Cl, comme dans le sang : notion qui fut introduite par NENCKI et sa collaboratrice, et qui fut appuyée par BONNINGER (14) pour l'échange entre plasma et globules rouges.

Quelques autres notions hâtivement introduites par des thérapeutes comme LEWIN n'ont plus cours : telle l'affinité spéciale des cerveaux d'épileptiques pour le brome, l'action destructive de celui-ci pour les hématies, l'action leucocytosique, etc.

Mais si on remonte aux sources qui devraient établir les différentes notions admises, on est étonné de la pauvreté des documents apportés en leur faveur.

La notion incontestée et incontestable de la rétention du brome à la place du chlore, a causé une telle surprise, qu'on semble avoir considéré tout le reste comme naturel ou accessoire.

Peut-être y a-t-il un autre facteur à cet état d'esprit : après le travail des physiologistes russes, qui portait sur le HBr gastrique et le NaBr des tissus, ce furent des neurologistes comme LAUDENHEIMER, (6) qui intervinrent ou de simples étudiants allemands faisant rapidement leur dissertation doctorale, tels PFLAUMER, (5) BÜCHNER, (7) FELL, (8) et FESSEL (9) et dont on retrouve tout au plus des articles dans les *Wochenschrift*.

C'est au point que VON WYSS en 1906 (12) estime que les « spärlichen Angaben » de LAUDENHEIMER et les contradictions entre les résultats de BÜCHNER et FESSEL exigent un travail de contrôle. Malheureusement ce contrôle ne fut satisfaisant que pour l'excrétion urinaire des malades en cure ; au point de vue physiologique, VON WYSS ne fit qu'accentuer la confusion.

Résumons les documents concernant les divers points.

1° LE BROME RÉPARTI DANS LES TISSUS.

NENCKI et SCHOUMOW-SIMANOWSKY (4) analysent Br et Cl dans les organes de 2 grands chiens (19 et 23 Kil.) qui avaient subi le même sort : l'absorption de 38 ou de 46 gr. de NaBr en 10 jours, ce qui rendit les animaux très malades ; alors on les laisse 3 jours sans bromure pour les réconforter, puis on les tue par saignée. Mais ces deux animaux n'ont livré ensemble qu'*une* analyse par organe, sauf pour les reins et la muqueuse gastrique, dont il y eut 2 échantillons. Des chiffres uniques sont toujours sujets à caution, et nous verrons par nos expériences à quelles variations on est exposé ici. De plus, NENCKI offre lui-même le flanc à une critique spéciale au cours de son travail. Il a fait déterminer sur les organes de 5 chiens normaux le pourcentage en chlore et il le compare à la charge de brome trouvée chez ses deux chiens bromurés. Or, si nous rapprochons les chiffres des éléments halogènes Cl + Br : 2,2 d'une part, avec les chiffres de Cl normal, d'autre part, on constate des écarts effrayants.

Par ex. : le *sang* bromuré donne les chiffres Br % 0,34
Cl % 0,198

0,34 de brome remplace 0,154 de Cl, puisque Br : Cl : 80 : 35,5 = 2,2. Donc 0,198 + 0,154 = 0,352 % alors que le sang normal donne 0,268 % de Cl avec des variantes extrêmes allant de 0,23 à 0,29, selon NENCKI lui-même.

Si nous comparons de façon similaire les autres chiffres de NENCKI et SCHOUMOW-SIMANOWSKI, ceux de la page 328, avec ceux des pages 329

et 330 en multipliant les chiffres du brome par $\frac{35,5}{80}$, nous aboutissons aux résultats suivants :

Cl + Br des *chiens bromurés*.	Tissus	Moyenne en Cl % de 5 chiens *normaux*	Variantes *extrêmes* des normaux.
0,35	sang	0,268	0,235 à 0,296
0,29 et 0,23	reins	0,122	0,109 à 0,138
0,22	poumon	0,15	0,135 à 0,164
0,23	moëlle épin.	0,043	0,039 à 0,046
0,188 et 0,077	estomac	0,093	0,087 à 0,096
0,213	intestin	0,04	0,026-0,036-0,059
0,077	foie	0,025	0,014 à 0,039
0,14	rate	0,107	0,088 à 0,125
0,127	cerveau	0,10	0,075 à 0,122
0,14	peau	0,14	
0,069	pancréas	0,051	0,033-44-57-88
0,036	muscle	0,033	

Les écarts énormes dans les 7 premiers tissus exigeraient une explication : ou bien le brome ne remplace pas simplement le Cl, ou bien les analyses exécutées par des travailleurs différents (NENCKI le dit) sont sujettes à caution, ou bien les organes des chiens bromurés ont été analysés avec beaucoup de sang. Les auteurs russes se contentent de constater « que tant à l'état normal qu'à l'état bromuré les organes se rangent de même façon, du plus riche en halogène au plus pauvre ». « Aus den beiden Bestimmungen geht aber deutlich hervor, dass die Organe, welche den höchsten Chlor, auch den höchsten Bromgehalt haben » (4) page 331.

Il y a encore de FELL deux analyses de cerveau et deux analyses de reins de chiens : puis de VON WYSS l'analyse d'un cerveau, d'un foie et d'un rein de lapin.

Ci-joint ces chiffres avec ceux du sang ou du sérum correspondant :

(FELL) :	BR.	Cl.
Sérums de chiens	0,1195	0,2515
	0,109	0,2401
Cerveaux	0,0223	0,0725
	0,0147	0,0665
Reins	0,0147	0,0614
	0,0144	0,0565

(VON WYSS) lapin ayant reçu en 11 jours 2,48 gr. de Br

Sang	0,90	% de Br.
Cerveau	0,89	%
Foie	0,03	%
Rein	0,037	%
Urines	0,012	%: soit 0,24 éliminé en 11 jours :

Les chiffres de FELL sont conciliables avec la thèse de NENCKI, mais les chiffres de VON WYSS (p. 283) doivent contenir une erreur pour les chiffres du sang et du cerveau, qui sont probablement 10 fois trop grands : sinon, tout le Cl du sang serait remplacé par Br, et le cerveau deviendrait un réservoir pour beaucoup plus de Br qu'il ne peut contenir de Cl à l'état normal.

Tels sont les documents existants sur le Br des tissus.

Nous voulons seulement montrer la faiblesse des documents sur lesquels s'appuie la thèse de *l'indifférence des tissus* pour le Br.

2° L'INDIFFÉRENCE DU REIN POUR LES IONS CL ET BR.

Beaucoup d'analyses urinaires ont été faites pour suivre l'élimination globale, NENCKI, LAUDENHEIMER, FELL, VON WYSS. Elles ne donnent pas grand'chose à notre point de vue, car ce sujet exige le dosage simultané du sang et des urines.

Dans les expériences fondamentales de NENCKI (4) on trouve à ce sujet les faits suivants :

a) Il existe une période assez prolongée (environ un mois) où, *après une cure au bromure,* le suc gastrique du chien, contient encore beaucoup de HBr, alors que les urines ne contiennent plus que des traces de Br. Si l'estomac secrète encore du Br, il faut bien que l'organisme en contienne encore des quantités notables ; pourquoi ne passe-t-il pas dans les urines?

b) A la mort d'un chien bromuré, le sang présente les ions Br/Cl dans le rapport 16/20 (calculant, poids de NaBr: : poids de NaCl) tandis que les dernières urines livrent seulement le rapport 4/12.

FELL (8) donne aussi le rapport Br/Cl du sérum de ses deux animaux et de leurs dernières urines avant la mort.

Poids relatif	Br %	Cl %	*ion Br/ion Cl.*
A Sérum	0,1195	0,2515	54/251 = 21/100
Urines	0,3666	1,5967	166/1596 = 10/100
B Sérum	0,109	0,2401	49/240 = 20/100
Urines	0,435	1,409	197/1409 = 14/100

VAN LEERSUM (11) a injecté du NaBr isotonique, à 2 lapins saignés à la limite compatible avec la vie et durant les 24 heures qu'ils ont survécu leurs urines ne contenaient pas de bromure : on peut objecter que ces animaux étaient agonisants.

Donc, ces documents bien objectifs indiqueraient plutôt que le rein retient le Br, ou qu'il est moins perméable au Br qu'au Cl.

Les deux expériences après lesquelles VON WYSS proclame l'indifférence du rein sont d'une autre nature, et sans aucune valeur convaincante (12, page 274) ; les voici :

En pleine cure, il donne à deux malades une dose diurétique de théobromine, et comme cette diurèse n'augmente pas le taux urinaire du Br, mais le diminue plutôt, il trouve cela probant pour sa thèse (page 275). Il ne fait d'ailleurs que deux fois cette expérience durant un jour ; et l'interprétation de l'effet est d'autant plus difficile qu'on est loin de connaître l'action intime de la théobromine elle-même ! Rien donc n'est moins prouvé que cette seconde thèse de l'indifférence du rein pour les ions Cl et Br.

ODAÏRA (16) récemment trouve une différence entre les effets du NaCl et ceux du NaBr injecté dans le sang, même en quantité modérée, effets sur la réserve alcaline du sang, mesurée par la capacité d'absorption du CO_2. Ce serait une indication pour ne pas accepter à la légère l'indifférence générale de l'organisme pour le brome. D'ailleurs on admettra toujours une action élective sur certains centres nerveux et sur la peau (acné), à moins d'interprêter ces effets par la déchloruration, comme VON WYSS crut pouvoir le faire.

3° LA DÉCHLORURATION.

Cette question n'est pas directement touchée par nos expériences, mais nous voulons en dire un mot parce qu'elle est en rapports intimes avec les sujets traités. Il semble, en effet, que la déchloruration interviendra beaucoup mieux si les cellules rénales et tissulaires ont de la répulsion pour le brome que si elles sont indifférentes aux 2 ions Cl et Br.

La déchloruration a été envisagée de façons différentes. Les pathologistes ne se sont préoccupés que d'une influence d'ordre pratique : et leur point de vue n'est plus discuté. L'abstention des chlorures augmente l'effet antispasmodique du bromure, comme si les chlorures chassaient les bromures. L'influence curative de la déchloruration n'est pas douteuse : l'effet antispasmodique de 3 gr. quotidiens de KBr est beaucoup plus intense si le malade ne reçoit que 3 gr. de de NaCl (déchloruration) par jour, que s'il est au régime usuel comportant au moins 10 gr. de NaCl. Mais cet effet peut s'expliquer sans aucune lutte entre le Cl et le Br ; même si les tissus et les reins étaient indifférents aux 2 ions halogènes, on s'expliquerait à cette différence d'effet, comme nous aurons l'occasion de le montrer au cours de nos propres expériences.

VON WYSS comprend la déchloruration d'une autre façon : l'effet curatif ne serait pas l'effet du brome lui-même, mais de l'insuffisance de Cl dans les tissus, il y aurait ainsi une fonction du Cl à laquelle le Br ne suppléerait pas. Remarquons d'abord que sur

la foi de deux expériences, beaucoup trop courtes et faites sur des malades, VON WYSS admet que l'administration simultanee de chlorures n'influence pas l'excrétion rénale du bromure.

Ces malades, comme tous les autres malades de VON WYSS, ne livrent dans leurs urines qu'une faible proportion des bromures ingérés. Le tiers ou la moitié des fortes doses, les deux tiers des petites doses ont échappé à l'analyse, même en pleine cure et dans la soi-disant période d'équilibre : cela infirme sérieusement la valeur des interprétations qu'on peut tirer de pareilles analyses. Et alors l'auteur recourt à des expériences sur lapin pour démontrer que la mort survient par une déficience de chlorures. Il tient des lapins exclusivement au lait et au bromure. Déjà après 3 à 4 jours, ces animaux sont très malades, et quand ils sont quasi moribonds, il les guérit en injectant sous la peau du NaCl ou même du NH_4Cl. Il guérit ainsi trois animaux; trois autres animaux injectés de sulfate ou de nitrate ne guérissent pas.

Cette preuve nous paraît avoir un double défaut : 1° l'effet peut-être une débromurisation quand même, le chlorure reprenant la place du bromure. 2° des lapins nourris au lait peuvent être moribonds, non pas d'intoxication bromée, mais d'acidose; il est reconnu depuis longtemps que l'acidose guette le lapin en inanition ou au régime carné, et n'y échappe que s'il reçoit de l'eau bicarbonatée. Il nous est bien difficile de voir clair dans ces expériences : tout au plus avons-nous le droit de ne pas nous déclarer convaincus de la thèse de VON WYSS; elle n'a d'ailleurs plus aucun crédit en pharmacodynamie.

Etat de la question.

Les thèses qui prévalent concernant la bromurisation tendent à admettre l'équivalence du Cl et du Br pour les cellules, mais les documents rassemblés depuis 30 ans sont loin de prouver ces thèses.

A la rigueur, on devrait admettre que le *rein* est moins perméable au brome qu'au chlore, alors que par contre il chasse l'iode de l'organisme, avec une rapidité prodigieuse.

L'indifférence des *tissus* pour le chlore et le brome n'est pas directement controuvée, mais les documents sont trop peu abondants pour établir une conviction scientifique.

Cette physiologie simpliste de l'indifférence des organes et des tissus devant l'ion Br, ion étranger à l'organisme, risque sérieusement de s'écrouler devant des expériences systématiques, comme toutes les thèses simplistes.

Et nous verrons que le Br n'est indifférent ni aux reins, ni aux tissus : sa physiologie paraît encore plus complexe que celle du NaCl, tous les facteurs intimes qui la régissent nous échappent et nous échapperont probablement encore longtemps.

Cette étude présente naturellement plus d'intérêt physiologique que thérapeutique.

Mode d'expérimentation.

Essais sur l'homme. — Pendant un an, nous cherchâmes à élucider le mécanisme de la sécrétion rénale du brome, en nous soumettant nous même à une bromurisation de 2 gr. par jour. Le chlore de notre sérum ne céda guère plus que le 1/10 de sa place à l'ion brome, à jeun. L'urine à jeun sécretée durant 1 heure, nous donna des chiffres variables, généralement faibles, inférieurs à ceux du sang, pour le Br/Cl. Mais dès que nous absorbions de l'eau ou le café du déjeuner, nous bouleversions les éliminations. A fortiori la prise de K Br, avec le potage du midi, introduisait un nouveau bouleversement : souvent un flot de Br et de Cl s'éliminait après le dîner, le brome dépassait le rapport Br/Cl du sang... à moins que l'absorption de la dose ne provoque un bond transitoire au brome du sang. Il aurait bien fallu se saigner à répétition, faire des diètes achlorurées, restreindre les boissons, etc.; et malgré tout, l'élimination urinaire du brome à ces faibles doses laisse un déficit énorme, comme VON WYSS l'a constaté sur ses malades.

Nous avions eu le malheur aussi de choisir comme méthode d'analyse celle des pesées de AgBr, suivies de la transformation du AgBr en AgCl, méthode pleine de dangers, où les erreurs s'accumulent et se compliquent étrangement, méthode qui en outre entraîne d'énormes pertes de temps à cause de la durée de chaque analyse. Cette méthode plaît au chimiste, mais elle n'est guère pratique pour le physiologiste.

Bref, les résultats péniblement rassemblés par ces essais, peu agréables au fond, nous laissèrent perplexes ; il n'y avait pas de chiffres bien évidents et indiscutables, ni pour, ni contre une sélection par le rein.

Bromurisation de lapins. — Tout en cherchant une nouvelle méthode de dosage, nous prîmes des lapins comme sujets d'expérience. Nous ne tardâmes pas à abandonner la dose quotidienne, donnée comme dans une cure humaine. Le lapin couché sur le dos, auquel on introduit une pipette entre les dents pour amener l'eau bromurée jusqu'à l'arrière-gueule, avale d'abord très docilement sa ration ; mais il ne se laisse pas surprendre longtemps ! Après quelques jours, il lutte d'adresse avec l'expérimentateur, il évite d'avaler et laisse refluer le liquide. Alors on ne sait plus ce qu'il a réellement avalé et bientôt c'est l'adresse de l'animal qui triomphe de la patience humaine.

Injections intraveineuses. — Nous décidâmes de couper court à tous ces tâtonnements et de suivre une autre voie : surcharger le sang de quantités connues par voie intraveineuse, contrôler par saignées successives les charges sanguines en Br/Cl, et saisir l'urine sécretée en de très courtes périodes entre deux saignées.

Grâce à cette méthode, le problème rénal fut très vite et très amplement résolu.

Le dosage des Br/Cl des organes à un moment voulu, put se

répéter tant qu'on le voulait, et en toute sécurité. Enfin devant la brusquerie de l'introduction de fortes doses de solutions isotoniques en NaBr, nous vîmes surgir une série de curieuses réactions de l'organisme, qui nous amenèrent à de tous nouveaux problèmes.

Méthode d'analyse.

Les dosages en série de Br à côté du Cl sont bien l'apanage des pharmacodynamistes. Mais chacun d'eux ne parle que de la méthode qu'il a employée et la trouve bonne. Or, nous voudrions bien éviter à nos successeurs le danger d'un choix malheureux. Il y a des méthodes dispendieuses et dangereuses, il y en a d'élégantes et rapides: il faut bien choisir.

1° Nous ne saurions assez déconseiller la méthode des pesées de AgBr qui peuvent se faire de deux façons. La première consiste à recueillir le mélange de AgCl et AgBr sur un filtre d'amiante, de le peser, puis de faire traverser le dépôt à 250°, par un courant de Cl, enfin de faire une seconde pesée.

La seconde méthode, déjà plus simple, consiste à évaluer exactement la quantité de nitrate d'argent nécessaire à la formation du AgCl + AgBr, puis de peser le dépôt : le AgBr étant plus lourd que le AgCl, la différence entre le titrage et la pesée permet de calculer les proportions de Cl et de Br.

Le danger de la méthode dérive d'abord de la difficulté de faire des filtres d'amiante suffisamment serrés pour ne rien perdre du précipité d'argent. On y arrive naturellement, mais non sans difficultés, et les réussir toujours, sans avoir de fuites durant le lavage des précipités, n'est guère donné à tout le monde. Mais cela acquis, la soi-disant unique pesée, selon la seconde méthode, comporte encore une série de pesées du filtre avant la filtration, jusqu'à ce que le poids du filtre reste constant, puis une série de pesées après filtration, jusqu'à poids constant. Quand tout réussit à souhait, l'analyse dure encore 3 à 4 jours. Hélas, une seule pesée erronée due à une trace d'eau, soit avant, soit après la filtration, fausse tous les calculs : surtout si le Br est peu abondant, les erreurs deviennent tout de suite énormes.

2° Nous avons fait l'expérience d'une seconde méthode, recommandée par les chimistes. (De Koninck, *Chimie analytique*). Elle consiste à chasser à chaud le Br, grâce à l'acide acétique concentré en présence de permanganate, puis de recueillir le Br dans une solution de KOH.

A cause du brome chaud, il faut un appareil qui évite tout joint en caoutchouc ou en bouchon ; l'emploi de la chaleur expose aussi à de brusques sursauts de la solution concentrée d'acide acétique; et quoique la méthode soit déjà plus rapide que la précédente, elle est encore beaucoup trop incommode et exposée à de fréquentes pertes,

Il y a beaucoup mieux.

3° Il faut revenir à la méthode de BERGLUND (2) déjà employée par NENCKI, d'abord parce qu'elle opère à froid et ensuite, parce qu'on peut lui donner toute sécurité avec un appareillage de toute simplicité.

Le principe essentiel est la séparation à froid du Br et du Cl par l'action associée du sulfate acide de potassium et du permanganate potassique : le brome est libéré des bromures, les chlorures restent intacts. L'opération est aidée par un courant d'air aspiré à travers la solution, et est terminée après 20 minutes pour les quantités usuelles. La réaction est fidèle : après NENCKI et bien d'autres, nous l'avons contrôlée, le chlore ne s'échappe pas en quantité dosable, le brome est entièrement libéré et chassé.

Il y a des variantes quant au dosage du brome libéré : *a)* BERGLUND (2) accaparait le brome au passage du courant d'air évacuateur dans un appareil de Will-Varentrap chargé de KOH ; il se forme la série des bromures, bromites, hypobromites et bromates, qu'on réduit facilement pour faire le titrage au $AgNO_3$. *b)* HONDO (10) a remplacé le KOH par une solution de KIo ; Br libère le Io du KIo qu'on titre à l'hyposulfite comme dans l'iodométrie, et cette variante semble avoir acquis la faveur des physiologistes.

Nous avons eu recours à une 3^e variante : nous ne cherchons pas à recupérer le Br, mais nous titrons la solution à analyser avant la réaction au $KMnO_4$, et après la réaction, naturellement sur deux moitiés séparées de la solution à analyser. Voici la raison de notre façon de faire. L'accaparement du Br par le KOH est difficilement intégral ; c'est évidemment une question physique, rapidité du courant, grosseur des bulles, nombre de solutions de passage. Si on a dû mettre beaucoup de KOH, il faudra aussi employer beaucoup de HNO_3 pour acidifier et les solutions devront être bien exemptes de Cl. De fait, nous avons presque toujours constaté des pertes : on ne retrouvait pas tout le Br échappé. L'abandon de cette variante par les physiologistes, à la suite de HONDO, ne nous étonne pas.

Mais l'accaparement du Br par KIo nous paraît autrement hasardeuse, quoique nous ne l'ayons pas essayée. Il se forme du Io libre qui reste théoriquement dissous dans l'iodure, mais qui est libre néanmoins, et que le passage rapide de bulles d'air doit entraîner facilement. La garantie d'une dernière éprouvette contenant du KIo amidoné, nous paraît ne donner qu'une fausse sécurité, là aussi l'iode est sollicité par le courant d'air. Enfin un trop fort courant d'air ne doit pas être inoffensif pour le KIo, et l'usage de CO_2 au lieu d'air, doit l'être encore moins : enfin on suppose que le permanganate ne libère pas d'O naissant, qui libère Io de KIo à lui seul.

Tous ces dangers sont évités en ne se préoccupant pas du Br libéré, mais en le calculant par la différence qui existe pour les halogènes dans la solution-mère avant et après la réaction ; il suffit

pour cela, qu'on sache encore titrer exactement le Cl retenu dans le mélange de $KHSO_4$ et $KMnO_4$. Or cela est de *toute facilité* moyennant le petit expédient suivant.

La solution qui a subi la réaction est déjà acide grâce au sulfate acide et elle contient un excès de $KMnO_4$. On y ajoute un supplément d'acide HNO_3 à 10 %, puis une solution concentrée de *sel de Mohr*, qui réduit immédiatement le permanganate, tout en devenant lui-même sel ferrique.

La décoloration sert de guide, quoique un excès de sel de Mohr ne nuise guère.

Après cela, inutile d'ajouter encore l'alun ferrique comme indicateur du NH_4SCN, on peut directement faire le titrage selon VOLHARDT.

Il n'y a donc aucune complication de réactifs : le sulfate ne gêne pas, tous les corps oxydants qui gênent le sulfocyanure sont détruits par le sel de Mohr et celui-ci forme lui-même le sel ferrique indicateur ; dès lors la méthode de VÖLHARDT s'applique intégralement, même sans transvasement, si on le veut.

Tout l'appareillage se réduit donc à 2 flacons barboteurs usuels de 200 cc. environ, reliés entre eux et reliés à une pompe aspirante. Le premier barboteur, contenant la solution à analyser, reçoit 1 à 2 gr. de permanganate en cristaux pulvérisés, et 4 à 5 gr. de sulfate acide de potasse.

Ce barboteur est relié simplement par un tube en caoutchouc à un second barboteur qui n'est en somme qu'un flacon de sûreté contenant une solution quelconque de soude caustique. Et ce second barboteur est directement relié à la pompe aspirante. On règle la pompe de façon à obtenir 4 à 6 bulles par seconde dans les barboteurs. On laisse marcher durant 20 à 30 minutes.

C'est d'une simplicité et d'une sécurité telle, qu'on peut exécuter cette réaction simultanément pour une série d'essais.

Les urines ne doivent guère avoir subi de préparation préalable. Les tissus ont été incinérés avec le mélange nitrate-bicarbonate au rouge sombre, l'extrait est neutralisé à l'acide sulfurique.

Nous avons rarement analysé moins de 10 cc. de sang ou d'urines, et les masses de tissus comportaient généralement un poids beaucoup plus notable. La précision des résultats est donc celle de la méthode de VOLHARDT, soit 1/20 de cc. d'une solution normale-dizième.

Au débutant, nous rappelerions qu'il faut, au moment du titrage, beaucoup de sel ferrique et beaucoup d'acide nitrique; quand on rencontre des difficultés, c'est presque toujours à cause de l'insuffisance d'un de ces produits. Tout oxydant en dehors du sel de fer doit être évité, il attaquerait le NH_4SCN. C'est un des gros avantages du sel de Mohr, après la réaction de BERGLUND.

EXPÉRIENCES

CHAPITRE I. — LA SÉCRÉTION RÉNALE DU BROME.

Nous n'avons qu'un seul but : doser le brome du sang au début et à la fin d'une période de sécrétion rénale bien délimitée. Pour cela nous choisissons après l'injection intraveineuse une période où nous savons déjà par expérience que le % de Cl et Br du sang ne subit pas de rapides modifications. Alors sans narcose, nous découvrons la vessie par une incision sus-pubienne, nous la vidons par compression ou par ponction : puis nous pratiquons la 1e saignée. Nous attendons alors que la vessie se montre bien remplie, nous faisons la seconde saignée et recueillons l'urine.

La sécrétion rénale était très variable, souvent abondante au point qu'en 6 à 10 minutes nous avions assez d'urine : 10 cc. nous suffisaient largement.

Seul le rapport Br/Cl nous intéresse ici.

Résultats. — I. Nous ne tardons pas à rencontrer des cas où l'élimination du Br est en retard sur celui du Cl: le rapport atomique Br/Cl dans les urines est plus petit que dans le sang.

TABLEAU I.

(Nous mettons au lieu du chiffre du Br, le poids du Cl remplacé par le Br).

	Sang.		Urines.	
		Br/Cl		Br/Cl
Exp. 7.	3′ après l'injection	88/100	toute la période, 34 cc..	29/100
	8′ » »	54/100		
	13′ » »	940/100		
Exp. 8.	3′ après l'injection .	48/100	toute la période, 5 cc. .	24/100
	8′ » » .	46/100		
	13′ » » . . .	1800/100 (?)		
Exp. 9.	27e min après l'injection	152/100	10e à 32e minute. . . .	20/100
	32e » » »	48/100		

Ces cas ne font que s'ajouter au cas signalés dans notre historique où le Br des urines se montre aussi en déficit.

II. Dans une série de cas, la concentration des urines est assez rapprochée de la concentration du sang pour le Br/Cl.

TABLEAU II.

Sang.			Urines.	
		Br/Cl		Br/Cl
Exp. 3.	A la 35e min. . .	46,3/100	de 35′ à 65′ : 3 cc.	20/100
	A la 65e min. . .	11,1/100		
Exp. 5.	A la 5e min. . .	39/100	de 5′ à 45′ : 3 cc. .	36,6/100
	A la 45e min. .	38/100		
Exp. 6.	A la 5e min. . . .	117,5/100	7,5 cc.	110/100
Exp. 11	A la 15e min. . .	53/100		
	A la 20e min. . .	25/100	60 cc.	23/100
	A la 23e min. . .	26/100		

Ces 4 expériences pourraient être invoquées en faveur de l'indifférence du rein à l'égard des ions Br et Cl, puisqu'il les élimine proportionnellement à leur concentration dans le sang.

III. Mais nous rencontrons aussi des urines où la prédominance du Br est telle, qu'elle exclue toute discussion. C'est la constatation *originale et théoriquement importante* de ce chapître.

TABLEAU III.

Sang.			Urine.	
		Br/Cl		Br/Cl
Exp. 2,	A la 15′	39/100	46 cc. recueillie à la 45′ :	56,6/100
	A la 60′	34/100		
	A la 120′	46,6/100		
	A la 165′	58/100	3 cc. à la 225′ :	150/100
	A la 225′	73.3/100		
Exp. 4.	A 5′	37/100	A 5′ :	155/100
Exp. 6.	A 5′	117/100	5,5 cc. de 5′ à 15′ :	280/100
	A 15′	55/100		
Exp. 12.	24 h. après injection	19/100		
	Seconde saignée, immédiate après la première	27/100		
			22 cc. : en 10′ :	137/100
	10 min. plus tard . .	21/100		
	Quatrième saignée, immédiate après la troisième	24/100		

Dans 4 de ces chiffres le différence est énorme : 2 fois l'urine dépasse du double le rapport Br/Cl du sang (exp. 2 et 6) une fois le quadruple (exp. 4) et une fois le quintuple (le lendemain de l'injection (exp. 12)).

Il n'y a donc pas de doutes, le rein est capable de chasser vivement et presque électivement le bromure du sang, et les raisons de son intervention ne se trouvent pas exclusivement dans le rapport Br/Cl du sang.

En effet pour des compositions assez similaires de sang, l'élimination peut prendre des allures opposées. Comparez exp 11 et 12 ou exp. 2 et 5; et le même animal passe d'une catégorie à l'autre, par ex. exp. 6.

Les urines surchargées de brome sont tantôt précoces (exp. 4 et 6), tantôt tardives (exp. 2 et 12). De même, dans le tableau I, 2 échantillons faibles en Br étaient précoces et le 3e échantillon faible était tardif.

Quel est le facteur? Nous ne pouvons espérer de l'entrevoir, avant que la physiologie ne nous ait révélé les facteurs qui règlent la sécrétion du NaCl lui-même. Là aussi, nous voyons que la composition du sérum n'est pas le seul facteur, car nous rencontrons d'énormes éliminations de NaCl alors que le taux du sang en NaCl n'est pas excessif, et inversément.

Mais le rein est capable de sélectionner l'ion halogène, parfois il élimine de préférence le Cl, d'autres fois il chasse presque exclusivement le Br.

L'indifférence du rein à l'égard du Br-Cl est loin de la vérité. Le rein ne chasse pas toujours le Br comme un corps étranger : et il n'est pas moins perméable pour le Br que pour le Cl. Il obéit à des lois que nous ignorons encore, mais il est capable de faire subir aux Cl et Br des sorts très variés.

Chapitre II. — Charge des tissus en Brome.

Plus ou moins longtemps après une injection intraveineuse de 100 cc. de solution isotonique de NaBr, nous tuons le lapin par une dernière saignée ou plus rarement par embolie gazeuse du poumon (en insufflant de l'air par la veine jugulaire).

Le temps révolu entre la fin de l'injection intraveineuse et la mort varie de 13 minutes à 24 heures.

Résultats. — Nous rassemblons ici les résultats intéressants dans leur ordre logique.

Dans ce tableau nous donnons seulement le numérateur représentant le Cl remplacé par le brome alors que le dénominateur 100 représenterait le Cl non remplacé. Et nous mettons en tête les organes qui ont montré les plus fortes affinités pour le brome.

TABLEAU IV.

Proportion de Cl remplacé par Br dans les tissus (numérateurs du rapport Br/Cl (Cl = 100).

	Exp. 6	Exp. 7	Exp. 8	Exp. 9	Exp. 11	Exp. 12
Dernier sang	55	54-940	46-1800	48	26	24
Reins	76	520	233	50	48	30
Paroi gastrique . . .			27	24	15	52
Id. avec contenu . .	114					
Intestin grêle		40	47			23
Id. avec contenu . .	238			305	49	
Contenu seul		51	13			
Coecum paroi			63	24	100	28
Colon paroi		280			40	38
Colon et son contenu.			172	23		
Foie et pancreas . .	27					
Id. + rate		85	85			
Muscles	39 et 52	48 et 45	43	360	38	59
Durée de la survi . .	15′	13′	13′	32′	23′	24h.

Remarques. — 1° Les 2 lapins 7 et 8 avaient subi des saignées qui devaient, pour des raisons exposées plus loin, ramener vers le sang une grande partie du bromure, voir p. 23.

Il est curieux de voir que précisément ces deux animaux ont présenté aussi la forte hausse *rénale* et qu'ils sont les seuls qui ont présenté cette hausse *exceptionnelle* : nous considérons les chiffres des quatre autres animaux comme insuffisants pour affirmer *que le rein accapare le Br.* Ici il s'agit des reins comme *tissus* et non de leur sécrétion qui, nous l'avons vu, peut être élective. (Chap. I).

2° L'unique chiffre 360 pour les muscles de l'exp. 9 (où pourtant 63 gr. de muscles avaient été prélevés pour l'analyse) reste un chiffre exceptionnel alors que les 7 autres analyses n'ont donné rien d'approchant. La solution bromurée injectée ici avait été rendue isovisqueuse. Nous craignons malgré tout une erreur d'analyse, quoiqu'elle serait survenue alors que nous étions le plus maître de la méthode, et sans qu'aucun incident ne nous ait averti d'une faute commise.

3° Il en est tout autrement des analyses du tube digestif. Les analyses de suc gastrique de Nencki (voir p. 4) ont déjà montré qu'il y a là un émonctoire qui fonctionne encore quand le rein n'élimine plus rien.

Ici les chiffres de l'exp. 6 et 9 montrent que ***l'intestin grêle*** avec son contenu peut accaparer une forte dose de bromure et exercer une vraie sélection sur lui.

Pour l'expér. 7 et 8 (sang surchargé) c'est le ***colon*** qui s'est sur-

chargé comme les reins, alors que l'estomac et l'intestin grêle n'avaient pas suivi le sang. Il est vrai que dans ces expériences la survie en surcharge sanguine a été courte. Cette surcharge sanguine peut avoir été provoquée par une forte saignée à la 8e minute, et la mort est provoquée à la 13e minute par une nouvelle saignée : voir p. 253, tableau VIII.

L'estomac et son contenu (exp. 6) présente une seule fois un chiffre très élevé, 15' après l'injection. Mais après 24 heures, (exp. 12) l'estomac présente encore le double de la charge du sang, paroi analysée sans le contenu gastrique ; ces deux cas sur cinq analyses peuvent bien venir en confirmation des analyses de NENCKI et donner un certain poids à la conception que l'estomac joue un rôle spécial sur le bromure.

En somme sept fois sur 17, il y a une partie du tube digestif qui accepte une provision de Br plus que double de celle des autres organes.

Paroi gastrique, exp. 6 et 12
Intestin grêle, exp. 6 et 9 (l'exp. 11 atteint presque le double
Colon, exp. 7 et 8 du sang)
Cœcum, paroi, exp. 11

Si on fait abstraction des expér. 7 et 8, on peut dire que le rapport Br/Cl du *sang* est dépassé en de fortes proportions par
la paroi gastrique, 2 fois sur 4.
l'intestin grêle, 3 fois sur 4. (y compris l'exp. 11.)
le cœcum, 1 fois sur 4.

Au total le fait se présente dans la moitié des cas. Cela n'est plus une coïncidence fortuite. Nous avons vu la *secrétion rénale* varier de *façon incontestable* son action sur le bromure. Dès lors, nous avons moins de surprise à voir la *muqueuse digestive* varier aussi son action. En ses différentes parties, cette muqueuse est capable d'*accaparer électivement* le Br., elle ne le fait toutefois pas systématiquement, pas plus que la partie *sécrétante du rein*, mais elle le fait assez souvent. Donc l'indifférence des tissus à l'égard des ions Cl et Br, est loin d'être une règle.

Les reins et le tube digestif sont capables d'exercer une attraction spécifique sur le Br, voilà la thèse la plus prudente et la plus probable à laquelle il faut adhérer d'après nos analyses.

Au moins voit-on combien sont dangereuses les comparaisons comme celles de NENCKI, basées sur des chiffres isolés et généralement uniques.

Analyses supplémentaires : Une analyse de *cerveau* ne nous a pas revélé de Br ; mais le cerveau de lapin est un peu petit pour cette recherche.

Une analyse *d'os* nous a donné dans l'expér. 6 le chiffre de 80 : le sang avait donné à la 5e minute 117 et à la 15e minute 55.

Les 3 analyses du foie ne nous montrent aucune électivité de cet organe, mais trois analyses sont peut-être insuffisantes pour établir une conviction. Nous n'avons pas rencontré de liquide d'ascite suffisant pour en faire l'analyse.

Chapitre III. — Variations du bromure sanguin.

Nous avions donc adopté le système d'injecter par la veine jugulaire une solution isotonique de NaBr. Usuellement nous introduisions 100 cc en 10 minutes environ, à des animaux pesant 2 à 3 kil. La solution était attiédie et contenait le plus souvent 1 $^{00}/_{00}$ de glucose et 0,5 $^{00}/_{00}$ de bicarbonate sodique.

Nous ne constatâmes aucune gêne de l'animal durant ces injections, sauf un peu de tremblement quand la solution s'était un peu refroidie et un peu de polypnée quand la solution était un peu chaude ; il suffisait de corriger la température durant la seconde moitié de l'injection pour voir disparaître le phénomène. L'animal était calme à la fin de l'injection, mais il était loin d'être narcotisé. Une carotide portait une fine canule, et aussitôt l'injection faite nous prenons une grosse goutte de sang pour vérifier la charge en hémoglobine, la charge normale ayant été évaluée avant toute injection. La détermination de l'hémoglobine se faisait par un hémoglobinomètre colorimétrique (*), toutefois pour éviter les trop grosses erreurs dues à la récolte du sang par le petit tube qui accompagne l'appareil, nous faisions tomber une goutte de sang dans une capsule et sans aucune perte de temps par une pipette graduée au 1/100 de centimètre cube, nous aspirions une quantité de 10 à 25 centièmes de centimètre cube que nous lisions exactement; puis cette quantité de sang était diluée au centième dans une éprouvette, par l'eau distillée. Avec cette précaution, l'erreur de lecture devenait certainement inférieure à 5 $^{0}/_{0}$, ce qui nous suffit amplement. Les lapins employés pesant 2000 à 2500 gr. il ne faut évaluer leur volume sanguin qu'à 1/20 selon des auteurs récents, et cela correspond assez bien à nos calculs. En introduisant 100 cc de solution isotonique, nous doublions donc à peu près le volume du sang, théoriquement.

Mais il est connu de longue date, que l'introduction de sérum physiologique par voie intraveineuse est si vite compensée par l'organisme, que l'on ne constate aucune dilution du sang circulant. D'après Smith et Mendel, (15) quand la solution est bromurée, la reconcentration du sang se fait même plus vite que pour une solution au NaCl.

En tous cas le dosage de l'hémoglobine nous fit constater régulièrement ce phénomène : à la fin de l'injection le taux de l'hémoglobine était approximativement le même qu'avant l'injection.

(*) Hémoglobinomètre de Fleischl-Miescher.

Il nous importait de voir ce que le bromure devenait durant cette réaction de l'organisme.

Parfois il y avait de la diurèse, mais le maximum constaté fut de 45 cc : souvent la diurèse ou le remplissage de la vessie était minime et restait sous les 10 cc.

Quand nous voulions doser les halogènes du sang, nous prenions environ 20 cc. à chaque saignée.

Dès ce moment nous voyons le taux de l'hémoglobine baisser parallèlement avec les saignées, et c'est ici surtout que nous voyons que le poids du sang d'un lapin ne doit pas être estimé supérieur au 1/20 du poids de l'animal.

Les saignées ramenaient donc la solution physiologique des tissus vers le sang, et ici nous nous trouverons devant les péripéties inverses de l'injection.

Aussi nous allons constater 2 phases, une pour le départ vers les tissus de la solution physiologique, chlorurée et bromurée, et une seconde phase pour le retour de la solution physiologique vers le sérum circulant.

Y entreverrons-nous certaines règles ?

A. — Sort du Br/Cl ***pendant la reconcentration*** du sang par le départ de la solution isotonique vers les tissus.

Au début de nos expériences, nous ne dosions pas l'hémoglobine du sang avant d'injecter, notre attention n'étant pas attirée de ce côté. Plus tard quand nous avons pris cette précaution, nous n'avons rencontré qu'un seul animal où il existait une dilution du sang (sauf après injection isovisqueuse) peut-être parce que l'injection avait été particulièrement rapide, en 6'.

Calculons au préalable quelle serait la concentration en BrNa du sang dans le cas où les ions Br et Cl seraient indifféremment chassés du sang.

Supposons un animal de 2 kil., contenant 1/20 de sang, donc 100 gr. de sang : si on lui ajoute 100 cc. de solution de NaBr,on croirait peut-être que le sang sera dilué de moitié, et qu'on trouvera comme rapport ionique Br/Cl = $^{100}/_{100}$.

*Mais, **première** correction nécessaire* : Le volume des globules n'est pas escompté dans ce calcul et en l'estimant au minimum à 30 °/₀ du volume du sang, après le départ de 100 cc. de serosité du courant sanguin, il devrait y avoir Br/Cl $>$ $^{100}/_{100}$.

Seconde correction nécessaire : Ce départ se fait de minute en minute, à fur et à mesure que la solution étrangère entre. Dès lors il faut calculer ce qui pourrait se faire à chaque minute, si pas à chaque instant de l'injection.

Ce calcul s'impose, sinon on fausse étrangement les faits. Supposons un animal possédant 100 cc. de plasma et recevant 100 cc.

de NaBr physiologique injectés en 10 minutes et calculons ce qui reste dans le sang *à la fin de chaque minute*, approximativement, et en supposant qu'il ne se produit aucune sélection entre NaBr et NaCl.

1re minute et 1re injection.	100 NaCl + 10 NaBr : Départ de 1/10 du mélange, soit 10 NaCl + 1 NaBr. Reste 90 NaCl + 9 NaBr.
2e minute et 2e injection.	90 NaCl + 9 NaBr + 10 NaBr. Départ de 1/10 du mélange, soit 9 NaCl + 1,9 NaBr. Reste 81 NaCl + 17 NaBr.
3e minute et 3e injection.	81 NaCl + 17 NaBr + 10 NaBr. Départ de 1/10 du mélange, soit 8 NaCl + 2,7 NaBr. Reste approximativement 73 NaCl + 25 NaBr.
4e minute et 4e injection.	73 NaCl + 25 NaBr + 10 NaBr. Départ de 1/10 du mélange, soit 7 NaCl + 3.5 NaBr. Reste 66 NaCl + 32 NaBr.
5e minute et 5e injection.	66 NaCl + 32 NaBr + 10 NaBr. Départ de 1/10 du mélange, soit 6,6 NaCl + 4,2 NaBr. Reste 60 NaCl et 38 NaBr.
6e minute et 6e injection.	60 NaCl + 38 NaBr + 10 NaBr. Départ de 1/10 du mélange, soit 6 NaCl + 5 NaBr. Reste 54 NaCl et 43 NaBr.
7e minute et 7e injection.	54 NaCl + 43 NaBr + 10 Na Br. Départ de 1/10 du mélange, soit 5,4 NaCl + 5,3 NaBr. Reste 49 NaCl et 48 NaBı.

Donc approximativement le rapport $^{100}/_{100}$ est réalisé après l'injection de 70 cc de NaBr à un animal possédant primitivement 100 cc de NaCl physiologique en plasma. Continuons

8e minute et 8e injection.	49 NaCl + 48 NaBr + 10 NaBr. Départ de 5 NaCl et 6 NaBr. Reste 44 NaCl et 52 NaBr.
9e minute et 9e injection.	44 NaCl + (52 + 10) NaBr. Départ de 4,4 NaCl + 6,2 NaBr. Reste 40 NaCl + 56 NaBr.
10e minute et 10e injection.	40 NaCl + (56 + 10) NaBr. Départ de 4 NaCl + 6,6 NaBr. Reste 36 NaCl + 60 NaBr.

Donc à la fin de l'injection de 100 cc. de NaBr phys. à un lapin pesant 2 Kil. 600, ayant primitivement 100 cc. de plasma, le rapport Br/Cl devrait dépasser $^{60}/_{40}$ ou $^{150}/_{100}$.

Ce résultat du calcul peut surprendre à première vue; nous ne l'avons fait nous-même qu'après avoir constaté une fois un rapport dépassant $^{100}/_{100}$, et après nous être demandé un instant si le chlore était chassé électivement de la circulation. Or un pareil résultat ne permet pas une telle supposition. A fortiori les chiffres que nous obtenons à la fin de l'injection nous prouveront tous que le bromure est chassé électivement (pour ne pas dire exclusivement) du torrent sanguin.

Voici le résultat de nos analyses en regard du poids des animaux, de la quantité injectée, de la durée de l'injection, et de la minute où s'est faite la 1er saignée analysée.

TABLEAU V.

	Poids en gr.	cc. injectés.	Durée	Min. après fin de l'inj.	Rapport ion Br/Cl.
Exp. 1	2100	150	20′	3′	23/100
Exp. 2	3400	250	35′	15′	39/100
Exp. 3	2760	100	10′	5′	34,5/100
Exp. 4	2595	100	10′	5′	37/100
Exp. 5	2970	100	10′	5′	39/100
Exp. 6	2450	100	10′	5′	117,5/100
				15′	55,5/100
Exp. 7	2120	100	6′	3′	88/100
				5′	54/100
Exp. 8	2220	100	5′	3′	48/100

Le résultat est patent ; y compris même les lapins 6 et 7 qui sont en retard, tous ont chassé plus de NaBr du sang que la théorie de l'indifférence pour les ions Br et Cl l'exigerait : 6 fois sur 8, il y a dans le sang moins du tiers de ce que cette théorie demande.

Le NaBr est incontestablement chassé hors de la circulation : il nous serait impossible de déterminer vers où il est dirigé : nous pouvons exclure seulement une élimination urinaire, qui est toujours minime, d'ailleurs ce bromure reparaîtra bientôt dans la circulation moyennant certains artifices.

Comme les dosages que nous avons fait dans les tissus sont tous plus tardifs, nos expériences ne nous renseignent pas vers quels organes se dirige le premier flot de bromure. Nous savons seulement que les immenses masses gastro-intestinales du lapin sont capables d'héberger du bromure de façon élective.

De visu, il n'y a ni ascite, ni œdème des organes.

Décérébration.

La fonction qui règle le volume du sang est souvent attribuée à des centres nerveux de la base du cerveau, à l'hypophyse ou à la substance nerveuse voisine. Nous avons eu la curiosité de voir si un animal bien décérébré de façon à couper toute relation anatomique entre la zône hypophysaire et la moëlle, lutterait encore efficacement contre la pléthore.

Après avoir trépané un lapin de 2700 gr. entre les 2 pavillons d'oreille, nous y glissons une sonde cannelée et sectionnons le tissu nerveux en raclant la base du crâne du bout de la sonde.

Puis l'animal est soumis à la respiration artificielle.

L'injection de 100 cc. de NaBr physiologique avec 1 $^{0}/_{00}$ de glucose et 0,5 $^{0}/_{00}$ de bicarbonate, à 40^{0}, est alors faite par la veine avec un maximum de vitesse, soit en 5 minutes.

Nous nous guidons sur le dosage de l'hémoglobine, et nous ne faisons la 1re saignée que lorsque 3 chiffres d'hémoglobine se sont montrés identiques.

TABLEAU VI.

Et voici le résultat : exp. 11.

Temps.	Hémoglobine	Br/Cl.
Avant l'injection	120	
Après l'injection : 1 min.	110	
5 min. : . . .	110	
10 min.	110	
Saignée 15 min.	110	53/100
Saignée 20 min.	90	25/100
Saignée 23 min.	75	26/100

Donc à 10 $^{0}/_{0}$ près, les 100 cc. d'injection ont disparu de la circulation en 6 minutes *malgré la décérébration*, et après 20 minutes, le bromure se montre à peu de choses près dans les conditions usuelles du tableau V. La fonction régulatrice paraît donc indépendante du cerveau antérieur. Cette question sera poursuivie à part.

Isoviscosité.

Les solutions isotoniques de NaBr pourraient être accusées de manquer de viscosité. BAYLISS durant la guerre a attribué la plus grande importance à la viscosité des solutions d'infusion aux grands blessés. Quoiqu'on n'ait pas eu le succès prévu, nous croyons intéressant de rendre nos solutions isovisqueuses, en dissolvant 6 $^{0}/_{0}$ de gomme arabique dans la solution bromurée. La solution gommeuse fut faite

au bain-marie avec de la gomme finement pulvérisé, puis après plusieurs heures elle fut soigneusement filtrée. La viscosité vérifiée était très rapprochée de celle du serum de lapin.

L'effet sur la concentration du sang fut *évident*, mais *très passager*.

Exp. 9, lapin de 2250 gr., injection de 100 cc. de solution de NaBr isotonique, glucosée, bicarbonatée et isovisqueuse.

TABLEAU VII.

Temps	Hémoglobine	Br/Cl
Avant	110	injecté 1,6 gr. NaBr.
Après 1'	50	
10'	55	
20'	100	Br/Cl
27'	100	152/100 } 1re double 162/100 } saignée (2 × 20 cc.)
32'	80	48/100 2^{e} saignée.
Urines de 10 à 32':45 cc.		20/100 : NaBr éliminé = 0,088

L'expérience est convaincante, elle a été répétée avec les mêmes résultats globaux qui sont relatés dans un autre travail sur les injections de gomme (*).

Grâce à la viscosité la solution injectée a été nettement retenue pendant la durée de l'injection, puisque l'hémoglobine du sang est diluée de plus du double (le lapin ne pesait que 2250 gr.); mais 20 minutes plus tard, l'hémoglobine était remontée presque à sa concentration primitive.

Or, que voyons-nous au dosage du Br/Cl à la 1^{e} saignée? Le sang a le taux prévu par le calcul que nous avons fait page 18. Comme le départ n'a guère eu lieu pendant l'injection, c'est un mélange de 100 gr. de solution NaBr avec 80 gr. de solution NaCl qui se présente au filtre capillaire après la fin de l'injection. Pourtant, il est probable que la filtration aura déjà commencé durant l'injection, mais elle n'est très rapide que de la 10^{e} à la 20^{e} minute après l'injection.

Après la 27^{e} minute et après la saignée de 40 cc. environ, la fonction qui chasse le bromure du sang est intervenue et le Br/Cl est tombé à 48/100. Il y a donc eu durant ces 5 minutes (de la 27^{e} à la 32^{e}) une violente réaction contre le bromure retenu d'abord dans le sang.

On serait tenté de dire d'après cette expérience, que le sang s'est d'abord libéré de sa pléthore sans distinguer entre Cl et Br, puis c'est ultérieurement qu'il a cherché à se libérer du bromure spécialement. L'urine de cet animal a été recueillie de la 10^{e} à la 32^{e} minute, il y avait 45 cc., mais elle ne présentait que le rapport Br/Cl = 20/100, éliminant en tout seulement 0,088 gr. de NaBr pour une injection de

(*) Archives de Pathologie expérimentale, 1925.

1,6 gr. Une grande partie de l'eau avait donc passé par le rein entraînant surtout des chlorures et ce sont des organes internes qui ont accaparé le Br. Les tissus surchargés de cet animal (voir tableau 2) étaient l'intestin grêle et les muscles, ayant respectivement 305/100 et 360/100 pour le Br/Cl, et récélant en poids absolu au moins 0,5 gr. de NaBr, un peu plus que le bromure présumé du sang. Les détails de cet expérience ne doivent être retenus que pour les lignes générales qui s'expriment :

1) La viscosité de la gomme arabique retarde la concentration du sang de quelques 20 à 30 minutes ; mais après ce délai la concentration se fait (nous voyons dans l'autre mémoire, que la gomme est restée dans le sang.)

2) Le départ du bromure de la circulation ne se fait pas par les reins, pourtant ce départ est très vif à un moment donné, et il semble indépendant de la reconcentration du sang, puisqu'il se fait environ 10' après elle.

3) Après 32 minutes, la reconcentration du sang et sa décharge en bromure sont accomplies. Pour les modalités de ces phénomènes, nous ne pouvons nous appuyer sur les résultats d'une expérience unique; nous avons vu combien la nature est capricieuse, c.-à.-d. combien la physiologie de l'équilibre sanguin est complexe. Aussi nous ne présumons rien concernant le rôle des muscles, de l'intestin ou des autres organes.

B. — *Retour du sérum vers le sang circulant*, provoqué par les saignées successives.

On aurait pu croire que le sang qui, dès le début, cherche manifestement à écarter le bromure, en le chassant soit par les organes, soit par les reins, ne tolèrerait pas ultérieurement des hausses nouvelles du bromure sanguin.

Durant les premières minutes qui suivent l'injection, le taux du bromure tend manifestement à baisser dans le sang : surtout s'il est un peu en retard comme dans l'expérience 6 (page 12), le rapport Br/Cl tombe de la 5^e à la 15^e minute de 117,5/100 à 55,5/100.

Mais une fois dans les chiffres de 20 à 40 °/₀ une poussée inverse se fait sentir, puisqu'après 24 heures nous trouverons encore 19, 27, 21 et 24 (exp. 12, page 242).

C'est que les organes, même les moins chargés en bromure, contiennent déjà une charge comparable, même un peu supérieure, à celle du sang et il faut remarquer, qu'il y a en outre certains organes qui se sont énormément surchargés.

Peut-être bien que si on ne faisait pas de saignées, ce bromure des organes glisserait doucement et peu à peu à travers le sang pour aboutir dans les urines ; mais ce seront seulement des expériences sur l'homme ou sur de grands mammifères qui permettront de suivre cela. Ici les saignées nécessaires de 10 cc. au moins introduisent un

facteur violent : le sang est obligé de reprendre aux tissus l'eau et le sel disponibles ; il le fait d'ailleurs fidèlement quant au volume, et là où nous dosons simultanément l'hémoglobine, nous voyons celle-ci descendre régulièrement et proportionnellement aux saignées faites.

Alors survient une situation complexe où rien ne se laisse prévoir : les organes fort chargés en bromure entrent sans doute en œuvre et leur apport fait remonter le taux des bromures du sang.

La lutte alors doit être complexe entre le sang et les divers organes. Inutile de chercher à deviner des règles, une seule chose doit être admise : sous *l'influence d'une série de saignées le bromure est susceptible de remonter transitoirement à un taux très élevé dans le sang.*

Au début nous espacions assez fort nos saignées pour pouvoir suivre durant des heures le sort du Br sanguin. Après avoir constaté de légers bonds du Br sanguin, nous pensâmes que les saignées y étaient pour quelque chose et nous rapprochâmes les saignées : effectivement les bonds du Br devinrent de plus en plus déréglés.

Pour la clarté, nous donnons ici seulement le numérateur du rapport Br/Cl, le dénominateur étant toujours 100. Le chiffre indique donc comme dans le tableau IV, la proportion d'ions Cl remplacés par le Br dans le sang. Les quantités injectées, le poids de l'animal, la durée de l'injection et la dilution de l'hémoglobine ont peu d'importance ici. Nous indiquons seulement la minute où se fit chaque saignée après l'injection.

En suivant dans chaque colonne la série des chiffres de haut en bas, on voit d'un coup d'œil la succession des saignées que chaque lapin a subies, et cela, aux minutes indiquées à la 1e colonne.

TABLEAU VIII.

Temps.	Exp. 1	Exp. 2	Exp. 5	Exp. 3	Exp. 7	Exp. 8
3′	23				88	48
5′			39	34,5		
8′					54	46
13′					940	1800
15′	18,8	39				
35′ à 45′	5,2		38	46,5		
60′ à 65′		34		11,1 (65′)		
80′			24	17,6 (66′)		
100′			147			
115′ à 120′	35	46,6	38,8			
150′	11					
165′	16	58				
180′	45					
225′		73,3				
255′		24				
285′		34				

Nous ne voulons retenir qu'une seule chose de ces séries de chiffres : des bonds brusques de hausse sanguine en Br sont incontestables, ils se produisent plus ou moins accentués, dans tous les cas où les saignées se sont succédées rapidement. En brusquant les saignées, surtout au début, quand la décharge sanguine vient de se faire (exp. 7 et 8), le sang livre des chiffres de chlorure si bas, qu'on se demande ce qui se passe.

Mais nous n'avons pas la prétention d'épiloguer des faits aussi complexes.

Les variations du bromure sanguin dans ces circonstances ne sont que le corollaire fatal de toute la physiologie des bromures, constatée dans les premiers chapîtres : 'expulsion du bromure du sang, la surcharge de certains organes et la faible élimination usuelle des reins. Participant d'une part au sort des chlorures (déja si complexe), ayant en outre un sort particulier de corps étranger, pour lequel reins et tissus ne sont pas indifférents, le bromure du sang, du rein et des tissus, présentera des péripéties qui varieront avec les moindres circonstances physiologiques : toute tentative d'interprétation adéquate paraît vaine à l'heure actuelle.

Nous sommes loin des conceptions simplistes de NENCKI et VON WYSS : au lieu de l'indifférence des cellules pour Cl et Br, nous plongeons dans une physiologie des plus compliquées.

CONCLUSIONS.

1° La sécrétion rénale des bromures et chlorures ne livre pas pour ces sels des proportions parallèles à la proportion existant dans le plasma sanguin. Souvent l'élimination urinaire est déficiente en bromures, mais d'autres fois elle peut devenir si prédominante que l'action éliminatoire élective des reins devient incontestable.

2° Divers tissus sont capables d'accaparer un taux de bromure extrêmement élevé, quintuple à décuple du bromure sanguin. Ces tissus sont surtout les muqueuses digestives à différente hauteur et sans que les différentes parties du tube digestif semblent solidaires l'une de l'autre.

3° Le sang au début de l'introduction des bromures se libère *électivement* de la majeure partie du brome, soit de 2/3 à 4/5 du bromure injecté. Cela se fait rapidement. L'addition de gomme à la solution injectée, jusque iso-viscosité, ne retarde le phénomène que de 20 à 30 minutes. La décérébration semble sans influence.

4° Quand on soumet l'animal à une série de saignées durant les premières heures après l'injection, on voit les bromures du sang subir de fortes oscillations, avec des hausses momentanées incontestables.

5° Le chiffre de 40 °/₀ donné comme maximum pour le chlore sanguin remplaçable par le brome d'après ELLINGER et KOTAKE (13) est

dépassé un grand nombre de fois dans nos expériences, sans que l'animal parut en danger : nos $^{150}/_{100}$ représentent 60 % dans le calcul de ces auteurs.

Le bromure se classe ainsi à côté des sulfates et des phosphates, que BARKUS (18) a étudiés, substances peu nocives poui les tissus et tolérées en forte concentration passagère, substances étrangères pourtant au sang qui s'en libère rapidement jusqu'à un certain taux, substances enfin pour lesquelles le rein ne constitue pas un émonctoire intensif à seuil rigoureux et bas, comparable au seuil du potassium et de l'iode.

BIBLIOGRAPHIE.

1) CH. RICHET : *Journal d'anat. et de phys.*, 1878.
2) BERGLUND : *Zeits. f. anal. Chemie*, 24, 1885.
3) KÜLZ : *Zeits. f. Biol.*, 23, 1886.
4) NENCKI et SCHOUMOW-SIMANOWSKY : *Arch. f. exper. Path.*, 34, 1894.
5) PFLAUMER : *Dissertation*, Erlangen, 1895.
6) LAUDENHEIMER : *Neurologisches Zentralbl.*, 12, 1897.
7) BÜCHNER : *Dissertation*, Würzburg, 1898.
8) FELL. : *Dissertation*. Würzburg, 1899.
9) FESSEL : *Munch. Med. Wochens.*, 1899.
10) HONDO : *Berl. Klin. Wochenschrift*, 1902.
11) VAN LEERSUM : *Arch. f exp. Path.* 49, 1903.
12) VON WYSS : *Arch. f. exp. Path.*, 55, 1906.
13) ELLINGER u. KOTAKE : *Medic. Klinik.*, 1910.
14) BÖNNINGER : *Zeits. f. exp. Path. u. Ther.*, 1913.
15) SMITH a. MENDEL : *Amer. Journ. of Phys.*, 1920.
16) ODAIRA : *Tohoku-Journal of exp. Med.*, 4, 1924.
17) CHANUTIN, SMITH a. MENDEL : *Amer. Journ. of Phys.*, mai 1924.
18) BARKUS : *Amer. Journal of Phys.*, juin 1924.

PROTOCOLE DES EXPÉRIENCES.

Exp. 1.

Le 7/2-1924.
Injection de 150 cc. d'une solution physiologique de NaBr.
La solution était glucosée à 1 °/₀₀ et bicarbonatée à 0,5 °/₀₀.
Le lapin pesait 2.100 gr.
L'injection de la solution attiédie dans la veine jugulaire a duré 20 minutes et s'est passée sans réaction.

Sang	Temps	Poids	Hémoglobine	°/₀ NaCl + NaBr × 0,56	°/₀ NaCl	°/₀ NaBr × 0,56	Ion Br' / Ion Cl'	NaBr poids absolu
I	3'	20 gr. 4	—	0,424	0,344	0,080	23/100	18 centg
II	15'	19 gr. 3	—	0,417	0,351	0,066	18,9/100	12,8 »
III	45'	22 gr. 17	—	0,406	0,386	0,020	5,2/100	3,7 »
IV	120'	20 gr.	—	0,434	0,321	0,113	35/100	21,1 »
V	150'	19 gr. 45	—	0,451	0,406	0,045	11/100	8 »
muscle	post mortem	114 gr.	—	0,087	0,074	0,013	17,5/100	—

Exp. 2.

Le 7/3-1924.
Injection de 250 cc. d'une solution physiologique tiède de NaBr.
La solution était glucosée à 1 °/₀₀ et bicarbonatée à 0,5 °/₀₀.
Le lapin pesait 3.400 gr. L'injection a duré 35 minutes, sans aucune réaction.

Sang	Temps	Poids	Hémoglobine	°/₀ NaCl + NaBr × 0,56	°/₀ NaCl	°/₀ NaBr × 0,56	Ion Br' / Ion Cl'	Na Br absolu
I	15'	19 gr.	90	0,492	0,351	0,139	39/100	24,7 ctgr.
II	60'	21 gr.	80	0,472	0,351	0,121	34/100	21,4 »
III	120'	24 gr. 32	75	0,475	0,324	0,151	46,6/100	26,4 »
IV	165'	20 gr.	—	0,550	0347,	0,203	58/100	35,8 »
V	125'	21 gr. 89	50	0,496	0,286	0,210	3,3/100	34,5 »
VI	255'	17 gr. 8	45	0,448	0,362	0,087	24/100	15,4 »
VII	285'	30 gr. 5	—	0,541	0,403	0,138	34/100	24,3 »
Urine I	45'	60 cc.		5,417	3,459	1,958	56,6/100	20,6 »
» II	225'	3 cc.		1,95	0,78	1,17	150/100	0,6
Muscle	post mortem	125 gr.		0,072	0,051	0,021	41,4/100	—
Cerveau	» »	7 gr.			0,060			

Exp. 3.

Le 27-10-1924.

Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.
L'injection a duré 10 minutes et s'est passée sans réaction.
Le lapin pesait 2,760 gr.
La solution était glucosée, bicarbonatée et réchauffée.

	Temps	Poids	Hémoglobine	°/₀ NaCl + NaBr × 0,56	°/₀ NaCl	°/₀ NaBr × 0,56	Ion Br' / Ion Cl'	Na Br absolu
Saignée I	5'	27 gr. 5	85	0,437	0,326	0,111	34,5/100	19,8 ctg.
II	35'	22 gr. 3	60	0,450	0,307	0,143	46,5/100	25,2 »
III	65'	22 gr.	40	0,511	0,454	0,057	11,1/100	9,9 »
IV	66'	37 gr. 065	—	0,498	0,423	0,075	17,6/100	13,1 »
Urine	35' à 65'	3 cc.	—	0,703	0,586	0,117	20 100	0,9 »
Mat. fécales		26 gr.	—	0,236	0,203	0,033	16,6/100	1,5 »

Exp. 4.

Le 17-11-1924.

Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.
L'injection a duré 10 minutes et s'est passée sans réaction.
Le lapin pesait 2095 gr.
La solution de bromure était chauffée, bicarbonatée et glucosée.

	Temps	Poids	Hémoglobine	°/₀ NaCl + NaBr × 0.56	°/₀ Na Cl	°/₀ NaBr × 0,56	Ion Br' / Ion Cl'	NaBr absolu
Saignée	5'	21 gr.		0,432	0,316	0,116	37 /100	20,5 ctg.
Urine	5'			0,385	0,150	0,235	155/100	

Exp. 5.

Le 1-12-1924.
Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.
L'injection a duré 10 minutes et s'est passée sans aucune réaction.
La solution était glucosée à 1 ‰, bicarbonatée à ½ ‰ et chauffée.
Le lapin pesait 2,970 gr. Le dosage de l'hémoglobine a été fait au préalable.

	Temps	**Poids**	**Hémoglobine**	**% NaCl + NaBr × 0,56**	**% NaCl**	**% NaBr × 0,56**	**Ion Br' / Ion Cl'**	**NaBr absolu**
Sang	0'		80					
Saignée I	3'	28 gr. 380	75	0,473	0,313	0,124	39/100	21,8 ctg.
II	45'	23 gr. 7	50	0,481	0,346	0,135	38/100	23,7 »
III	80'	24 gr. 3	30	0,479	0,386	0,093	24/100	16,3 »
IV	100'	48 gr. 38	—	0,460	0,184	0,276	147/100	48,6 »
V	115'	8 gr	—	0,540	0,390	0,150	38,8/100	30, »
Urine	5' à 45'	3 cc.	—	0,800	0,586	0,214	36,6/100	

Exp. 6.

Le 9-1-1925.
Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.
La solution était glucosée à 1 ‰, bicarbonatée à ½ ‰ et chauffée.
L'injection a duré exactement 10 minutes et s'est passée sans aucune réaction.
Le lapin pesait 2.450 gr.
Le dosage de l'hémoglobine a été fait préalablement.
Aussitôt après la seconde prise d'urine et de sang, le lapin a été tué.

	Temps	**Poids**	**Hémoglobine**	**% NaCl + NaBr × 0,56**	**% NaCl**	**% NaBr × 0,56**	**Ion Br' / Ion Bl'**	**NaBr absolu**
Sang	0		80					
Saignée I	5'	22 gr.	—	0,459	0,211	0,248	117,5/100	43,6 ctg.
Saignée II	15'	21 gr. 3	—	0,453	0,291	0,162	55,5/100	28,4 »
Urine I	5'	7 cc. ½	—	0,328	0,156	0,172	110/100	2,2 »
Urine II	15'	5 cc. ½	—	0,404	0,106	0,298	280/100	2,8 »
Estomac et contenu	post mortem	132,2	—	0,201	0,093	0,108	114/100	24,8 »
Intestin grêle et contenu	»	101,1	—	0,287	0,083	0,204	238/100	35,4 »
Foie et pancréas	»	73,3	—	0,189	0,138	0,051	27/100	6,5 »
Coecum, Colon et leur contenu	»	182,95	—	0,366	0,321	0,045	14/100	14,8 »
Reins	»	13,1	—	0,237	0,134	0,103	76/100	2,3 »
Os	»	32,9	—	0,072	0,400	0,032	80/100	1,8 »
Muscle I	»	101,5	—	0,120	0,086	0,034	39/100	5,9 »
» II	»	109,35	—	0,139	0,091	0,048	52/100	7, »

Exp. 7.

Le 16-1-1925.

Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.

La solution était glucosée, bicarbonatée et chauffée.

L'injection a duré exactement 6 minutes et s'est passée sans réaction, à part un peu de tremblement musculaire.

Le lapin pesait 2,120 gr.

Le dosage préalable de l'hémoglobine a été fait : Pour plus de précision nous erons désormais la dilution préalable du sang dans une éprouvette.

Aussitôt après la troisième prise le lapin a été tué par un coup dans la nuque.

	Temps	Poids	Hémoglobine	°/o NaCl + NaBr × 0,56	°/o NaCl	°/o NaBr × 0,56	Ion Br′ / Ion Cl′	NaBr absolu
Sang	0		110					
Saignée I	3′	15 gr. 6	75	0,460	0,242	0,218	88/100	38,3 ctg.
Saignée II	8′	22 gr. 82	65	0,474	0,307	0,167	54/100	29,4 »
Sang III	13′	19 gr. 8	55	0,439	0,042	0,397	940/100	69,8 »
Urine totale		34 cc.	—	0,390	0,306	0,083	29/100	2,8 »
Contenu de l'intestin grêle	post mortem	48 gr 7	—	0,381	0,252	0,119	51/100	9,4 »
Intestin grêle	»	74 gr. 2	—	0,295	0,211	0,084	40/100	11, »
Colon	»	21 gr. 7	—	0,335	0,088	0,247	280/100	9,4 »
Foie, rate pancréas	»	58 gr	—	0,159	0,084	0,075	88,5/100	7,5 »
Reins	»	11 gr. 8	—	0,332	0,053	0,279	520/100	5,7 »
Muscles de la cuisse	»	73 gr. 15	—	0,088	0,059	0,029	48/100	3,6 »
Rable	»	51 gr.	—	0,081	0,056	0,035	45/100	2,2 »

Exp. 8.

Le 4-2-1925.

Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.
La solution était glucosée, bicarbonatée et chauffée.
L'injection a duré exactement 5 minutes et s'est passée sans réaction.
Le lapin pesait 2,220 gr.
Nous avons fait le dosage préalable de l'hémoglobine.
Aussitôt après la 3[e] prise, le lapin a été tué par un coup dans la nuque.
L'autopsie n'a rien montré de spécial.

	Temps	Poids	Hémoglobine	°/o NaCl + NaBr × 0,56	°/o NaCl	°/o NaBr × 0,56	Ion Br' / Ion Cl'	NaBr absolu
Sang	0'		110					
Saignée I	3'	22,7 gr.	85	0,449	0,302	0,147	48/100	26.4 ctg.
Saignée II	8'	19,7 gr.	70	0,411	0,282	0,129	46/100	23,1 »
Saignée III	13'	13,27 gr.	60	0,419	0,022	0,397	1800/100(?)	71,2 »
Urine I	antérieure	29 cc.	—	—	0,522	—	—	—
Urine II	postérieure	5 cc. 2	—	0,924	0,718	0,206	24/100	1,6 »
Contenu de l'intestin grèle	post mortem	21 gr. 45	—	0,418	0,370	0,048	13/100	1,8 »
Intestin grèle	»	65 gr.	—	0,274	0,180	0,094	47/100	10,3 »
Estomac	»	29,gr. 6	—	0,505	0,390	0,115	27/100	5.6 »
Colon et contenu	»	57 gr. 6	—	0,139	0,051	0,098	172/100	9,1 »
Coecum	»	27 gr. 50	—	0,223	0,137	0,086	63/100	4,1 »
Muscle	I	98 gr. 100	—	0,066	0,046	0,020	43/100	3,4 »

Exp. 9.

Le 18-2-1925.

Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.

La solution était glucosée à 1 ½ °/₀₀, bicarbonatée à ½ °/₀₀ et chauffée.

De plus, elle était rendue *isovisqueuse* au sang par 6 % de poudre de gomme arabique. Le tout a été préalablement chauffé et filtré.

L'injection a duré 10 minutes et s'est passée sans réaction, à part un petit tremblement musculaire dû probablement à l'hypothermie de la solution

Le lapin pesait 2,250 gr.

Nous avons suivi les variations du taux de l'hémoglobine dans le sang, qui nous permet d'apprécier les variations du volume du sang.

Le lapin a été tué par embolies gazeuses.

	Temps	Poids	Hémoglobine	°/₀ NaCl + NaBr × 0,56	°/₀ NaCl	°/₀ NaBr × 0,56	Ion Br′ / Ion Cl′	NaBr absolu
Sang	0′		110					
»	1′		50					
»	10′		55					
»	20′		100					
Saignée I	27′	19,7 gr.	100	0,446	0,173	0,273	152/100	47,9 ctg.
Saignée II	27′	19,5 gr.	—	0,435	0,166	0,269	162/100	47,3 »
Saignée III	32′	23,35 gr.	80	0,464	0,312	0,152	48,8/100	26,8 »
Urine	10′ à 32′	45 cc.	—	0,658	0,546	0,112	20/100	19,6 »
Intestin grêle et contenu	post mortem	78 gr. 9	—	0,280	0,069	0,211	305/100	29,1 »
Reins	»	17 gr. 8	—	0,336	0,224	0,112	50/100	3,5 »
Paroi-cœcale	»	33 gr. 6	—	0,223	0,179	0,044	24/100	2,5 »
Colon et son contenu	»	64 gr. 15	—	0,165	0,165	0,032	23/100	3,5 »

Exp. 11. ***(l'exp.* 10 *est supprimée.)***

Le 17-3-1925.

Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.

La solution était glucosée à 1 ‰, bicarbonatée et chauffée.

L'injection a duré 5 minutes.

Le lapin pesait 2,700 gr. avant l'injection.

L'animal a ***été décérébré*** préalablement par dilacération au niveau du mesencéphale. Pour prévenir tout accident, nous avons fait la respiration artificielle par trachéotomie préalable.

Nous avons suivi les variations du taux de l'hémoglobine.

La première prise de sang n'a été faite qu'un quart d'heure après la fin de l'injection

L'animal a été tué par embolie gazeuse.

	Temps	Poids	Hémoglobine	% NaCl + NaBr × 0,56	% NaCl	% NaBr × 0,56	Ion Br' / Ion Cl'	NaBr absolu
Sang	0'		120					
»	1'		110					
»	5'		110					
»	10'		110					
Saignée I	15'	14,4 gr.	110	0,483	0,334	0,149	53/100	29,7 ctg.
Saignée II	20	19,3 gr.	90	0,465	0,372	0,093	25/100	16,3 »
Saignée III	23'	16,55 gr.	75	0,500	0,394	0,106	26/100	18,6 »
Urine	totale	40 cc.	—	0,568	0,462	0,106	23/100	9,1 »
Paroi gastrique	post mortem	31 gr. 75	—	0,379	0,329	0,050	15/100	2,7 »
Intestin grêle et contenu	»	80 gr. 2	—	0,224	0,150	0,074	49/100	10,4 »
Coecum	»	86 gr. 35	—	0,112	0,056	0,056	100/100	8,4 »
Gros intestin	»	11 gr. 4	—	0,316	0,226	0,090	40/100	1,8 »
Reins	»	12 gr. 55	—	0,420	0,284	0,136	48/100	3, »
Muscle	»	111 gr.	—	0,092	0,067	0,025	38/100	4,8 »

Exp. 12.

Le 9-3-1925.

Injection de 100 cc. d'une solution physiologique de NaBr.

La solution était glucosée à 1 °/oo, bicarbonatée à ½ °/oo et chauffée.

De plus, elle était *iso-visqueuse au sang* par 6 °/o de poudre de gomme arabique. Le tout a été préalablement chauffé et filtré.

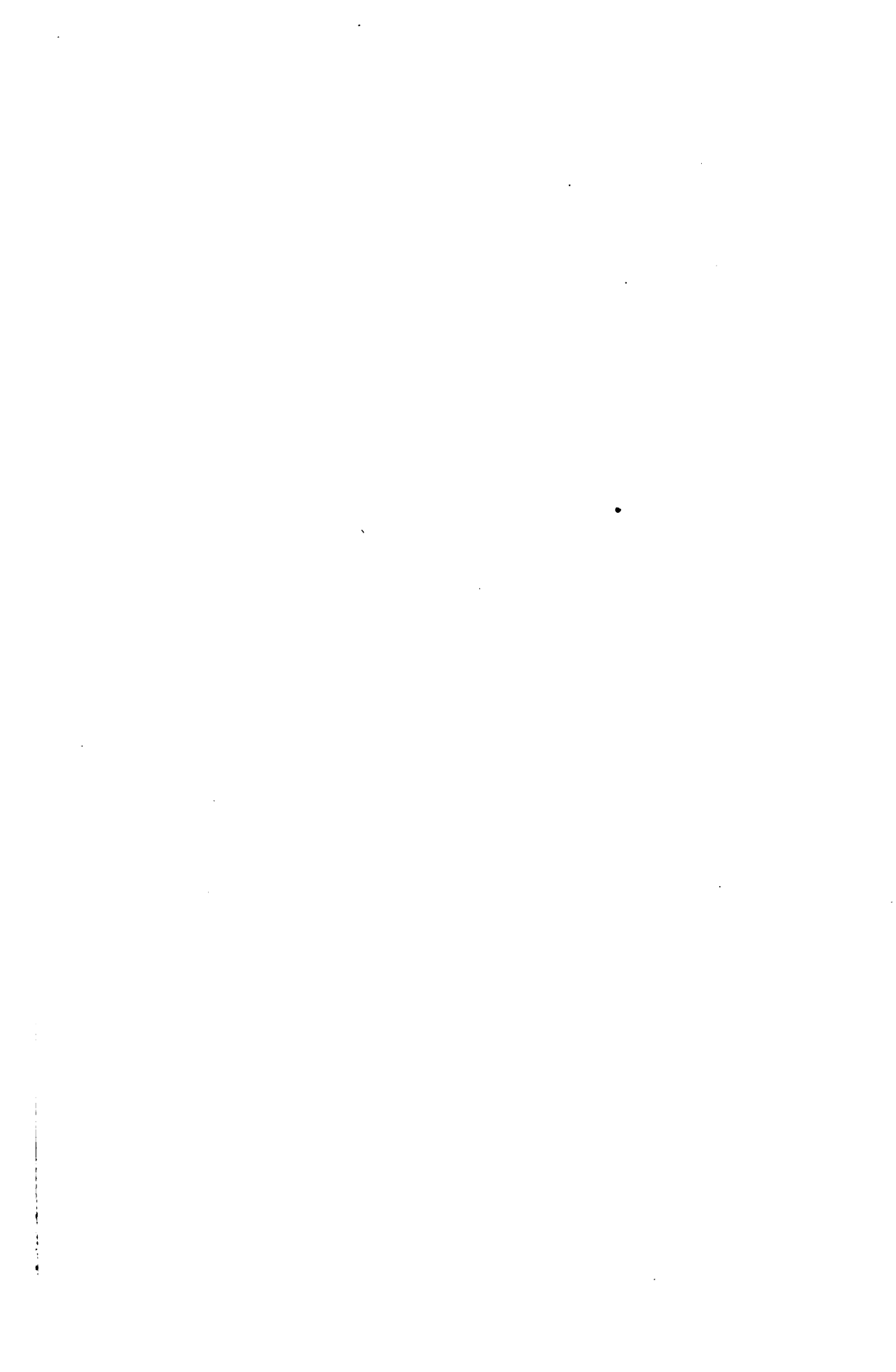
L'injection a duré 8 minutes.

Le lapin pesait 2,350 gr. avant l'injection.

Les saignées n'ont été faites que 24 heures plus-tard, sans que l'animal ait été soumis à aucune diète.

Nous avons suivi les variations du taux de l'hémoglobine parallèlement à celui des halogènes du sang.

	Temps	Poids	Hémoglobine	°/o NaCl + ZaBr × 0,56	°/o NaCl	°/o NaBr × 0,56	$\frac{\text{Ion Br'}}{\text{Ion Cl'}}$	NaBr absolu
Saignée I	24 H.	20 gr. 8	110	0,434	0,364	0,070	10/100	12,1 ctg.
Saignée II	»	18 gr. 45	110	0,454	0,357	0,097	27/100	17,1 »
Saignée III	24 H 10'	21 gr. 55	60	0,467	0,385	0,082	21/100	14,5 »
Saignée IV	»	24 gr. 25	60	0,483	0,390	0,093	24/100	16,9 »
Urine	»	22 cc.	—	0,101	0,042	0,059	137/100	2,2 »
Paroi gastrique	post mortem	20 gr. 5	—	0,599	0,392	0,207	52/100	7,4 »
Intestin grêle	»	73 gr. 2	—	0,422	0,341	0,081	23/100	7,9 »
Paroi coecale	»	43 gr. 92	—	0,226	0,177	0,049	28/100	3,8 »
Colon vide	»	34 gr.	—	0,306	0,221	0,085	38/100	5, »
Reins	»	11 gr. 9	—	0,440	0,338	0,102	30/100	2,1 »
Muscle	»	97 gr. 5	—	0,098	0,061	0,037	59/100	6,2 »

TRAVAIL DES LABORATOIRES A. LUMIÈRE DE PHYSIOLOGIE EXPÉRIMENTALE ET DE PHARMACODYNAMIE (LYON).

SUR LE RÔLE DES CENTRES NERVEUX DANS LES CHOCS ANAPHYLACTIQUES

PAR

AUGUSTE LUMIERE et HENRI COUTURIER.

A. — Influence de la ligature des carotides et de la voie d'introduction de la substance déchaînante.

Quand on injecte dans le cœur gauche d'un animal un floculat tel qu'une suspension de sulfate de baryte convenablement préparée, on peut provoquer un choc anaphylactoïde mortel, mais si l'on a procédé préalablement à la ligature des carotides, la crise ne se produit plus ou se trouve considérablement atténuée et l'animal survit.

Le précipité, d'une inertie chimique complète, ne paraît pouvoir exercer son action mécanique sur les terminaisons nerveuses endovasculaires que s'il atteint les centres cérébraux, puisque quand on empêche sa brusque arrivée au cerveau par la ligature carotidienne préalable, les phénomènes de choc ne surviennent plus.

D'ailleurs, si l'injection barytique mortelle dans le cœur gauche est pratiquée dans le cœur droit, elle n'amène plus que des désordres passagers, parce que le précipité est arrêté dans le réseau capillaire des poumons et ne parvient aux centres nerveux que partiellement et tardivement. Pour que l'animal succombe, il faut en augmenter fortement la dose administrée par cette voie.

Au cours d'une étude relative aux variations de l'indice pH qui se produisent à la suite de l'introduction de bases et d'acide dans le sang (1) nous avons remarqué que l'on peut introduire, sans inconvénient, dans la jugulaire du cobaye, 2 cc. 5 d'une solution d'acide

(1) AUGUSTE LUMIÈRE et MARCEL SORS, Effets de l'introduction des bases et des acides dans l'organisme. Variations de l'indice pH. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*. T. XXX, 1925, pp. 157-169.

chlorhydrique à 0,7 % tandis que cette même dose, injectée dans le cœur gauche ou dans la carotide, détermine aussitôt des convulsions intenses suivies bientôt de torpeur puis de coma vigile et de troubles sphinctériens qui se traduisent par la perte des urines ; l'animal semble se rétablir cependant au bout d'un quart d'heure à 20 minutes, mais il meurt dans la journée avec des lésions semblables à celles que l'on rencontre dans les chocs anaphylactiques ou anaphylactoïdes.

Nous avons facilement expliqué cette différence de toxicité suivant la voie d'introduction de la liqueur acide : lorsqu'on ajoute, en effet, *in vitro*, à un sérum quelconque, la solution chlorhydrique susceptible de déclencher les accidents observés, on constate, au néphéloscope, qu'il se produit une floculation, décelable aussi par centrifugation.

C'est incontestablement le précipité formé qui est nocif, car le mélange sérum-acide nocif, en injection intracardiaque gauche, perd toute sa toxicité après centrifugation, alors que le culot, remis en suspension par agitation violente dans du sérum physiologique et administré dans les mêmes conditions, produit des accidents de choc caractéristiques.

Injectée dans le cœur droit, cette même suspension de protéine floculée n'occasionne, la plupart du temps, aucun trouble ou seulement parfois une dyspnée passagère.

Lorsque la précipitation se fait *in vivo*, après injection de la solution chlorhydrique dans la jugulaire, les floculats formés, traversant le filtre pulmonaire, y sont retenus et ne parviennent plus aux centres cérébraux, tandis que si la précipitation survient dans la circulation artérielle, elle atteint aussitôt les centres au niveau desquels se trouvent sans doute les commandes régulatrices du système nerveux vaso-moteur.

Dans l'anaphylaxie véritable, les choses ne se passent pas exactement de la même manière, l'injection déchainante dans les veines ou dans le cœur droit n'empêche pas le choc, comme Forsman l'a constaté (1).

D'autre part, PESCI a observé que la ligature des carotides ne préservait pas complètement des effets de l'antigène chez les sujets sensibilisés. Nous avons confirmé ce résultat et observé que cette opération n'était nettement efficace que dans le cas d'injections de précipités préformés.

Ces faits ont été invoqués à l'encontre de notre conception de l'origine centrale de l'excitation endothéliale qui déclenche le cataclysme anaphylactique, mais l'objection tirée de ces expériences ne nous paraît pas valable parce que, quand on introduit la protéine déchainante

---

(1) FORSMAN, *Bioch. Zeitsch.* 1920, T. CX, p. 836.

dans la circulation, quel que soit son point de pénétration : cœur droit, cœur gauche, veine ou artère, la réaction de floculation ne s'effectue pas instantanément ; l'antigène se mélange tout d'abord à la masse sanguine et ce n'est le plus souvent qu'au bout de quelques instants que la précipitation survient en tous les points de l'arbre circulatoire.

Malgré la ligature des carotides, le sang qui irrigue les centres se trouve donc chargé à un moment donné des floculats nocifs qui se forment *in situ* et les désordres surviennent inévitablement.

Quand le précipité est préformé, au contraire, son injection est inopérante si des obstacles mécaniques le retiennent avant l'arrivée du courant sanguin au cerveau.

Ce mécanisme explique pourquoi la ligature des carotides est plus efficace quand on s'adresse à un antigène extrêmement actif ou, mieux encore, dans l'anaphylaxie *in vitro*, alors que le floculat s'est constitué avant l'injection.

Rappelons que, dans des conditions expérimentales particulières, nous avons, d'autre part, réussi à aggraver le choc par la ligature des carotides (1).

C'est ce qui se passe quand on utilise, comme produit déchainant, le bleu de Prusse en partie à l'état colloïdal et en partie à l'état floculé. Lorsque les carotides sont libres, la portion floculée, insuffisante pour déclencher immédiatement un choc fatal, accoutume les centres nerveux à l'excitation, de sorte que, quelques minutes plus tard, alors que la fraction colloïdale vient à floculer en masse à son tour, par suite de son mélange avec le sang, les vaisseaux cérébraux de l'animal se trouvent, dans une certaine mesure, préservés d'une surprise brusque par le floculat.

Quand on a, au contraire, pratiqué la ligature des carotides, les centres, tout d'abord protégés de l'action vaccinante du floculat préformé, se trouvent soudainement excités au moment où la portion colloïdale du bleu de Prusse se met à floculer par suite de l'action du sang.

Ces effets qui semblent paradoxaux a priori s'expliquent sans peine si l'on admet la notion d'un point de départ des chocs situé au niveau des centres cérébraux tandis qu'ils sont, sans cela, incompréhensibles.

B. — Objections relatives au rôle capital des centres cérébraux dans les chocs.

Le Dr. G. DROUET, tout en admettant que le choc est bien produit primitivement par une irritation des endothéliums vasculaires et capillaires, estime que cette irritation intéresse tous les vaisseaux

---

(1) AUGUSTE LUMIÈRE, *La Problème de l'anaphylaxie*. — O. Doin, éditeur, Paris, 1924, p. 36.

de l'organisme et non pas seulement ceux des centres nerveux. Les arguments qu'il donne, en faveur de cette hypothèse, peuvent se résumer de la façon suivante :

1° Il n'y a pas de signes cérébraux dans les formes atténuées du choc.

2° On observe des accidents locaux dans les injections d'arsénobenzol et l'urticaire sérique ; l'attaque d'asthme ou l'hémoglobinurie paroxystique, qui dépendent des phénomènes anaphylactiques, ne peuvent être d'origine cérébrale.

3° Au cours des chocs, il y a des signes cliniques qui traduisent l'altération des protoplasmas cellulaires et qui semblent indépendants du processus sympathique.

L'un de nous a répondu à toutes ces objections en apportant des expériences et des faits démonstratifs (1) dans le détail desquels il n'y a pas lieu de revenir ; nous nous contenterons seulement de rappeler les arguments principaux que nous avons apportés dans la discussion.

Les chocs résultent essentiellement de phénomènes vasomoteurs d'une grande intensité et l'absence de troubles cérébraux dans ces chocs ne prouve nullement que la vasodilatation viscérale n'est pas commandée par les centres.

A chaque instant, dans les manifestations vitales, on observe des oscillations dans le balancement de la circulation viscérale et périphérique, sans que ces mouvements soient accompagnés d'un retentissement psychique et, par contre, on trouve des malades atteints de lésions profondes et importantes de l'encéphale et qui ne présentent cependant pas pour cela des troubles cérébraux.

D'autre part, la floculation qui donne naissance aux accidents anaphylactiques n'a pas seulement pour effet de dérégler l'équilibre du système vago-sympathique ; indépendamment de la vasodilatation subite et considérable des vaisseaux viscéraux qui entraîne la chute de pression sanguine et les troubles graves immédiats constituant le choc, phénomènes qui, pour nous, sont commandés par les centres cérébraux, les floculats circulants sont encore susceptibles de provoquer d'autres symptômes pathologiques ; ils viennent s'arrêter dans les capillaires cutanés apportant, dans la circulation, une entrave aux échanges et à la nutrition des tissus ; telle serait pour nous la pathogénie des érythèmes d'origine anaphylactique et de la plupart des affections de la peau.

Si l'urticaire sérique, l'accès d'asthme ou l'hémoglobinurie paroxystique ne semblent pas relever d'une excitation des centres, cela ne signifie nullement qu'il en soit de même des chocs anaphylactiques ou anaphylactoïdes.

---

(1) AUGUSTE LUMIÈRE, *Le Problème de l'Anaphylaxie*, pp. 55 à 67.

Les précipités plasmatiques ne limitent pas leurs effets à la crise vasculo-sanguine qui constitue le choc, ils sont capables aussi de produire d'autres troubles fonctionnels ou lésionnels, locaux ou généraux et nous n'avons point prétendu que le domaine de l'anaphylaxie ne comportait que les chocs.

Enfin, les altérations cellulaires que l'on enregistre fréquemment, à la suite de la crise anaphylactique, paraissent être la conséquence de la vasodilatation extrême des vaisseaux viscéraux qui se produit au moment du choc, vasodilatation qui s'accompagne d'hémorragies intra-épithéliales et parenchymateuses.

Il ne s'agit point là d'une action de l'antigène sur les tissus, mais d'un phénomène secondaire, conséquence des suffusions sanguines organiques.

Si nous avons pu répondre aux objections qui nous ont été présentées, il en est une qui ne nous a point été faite et qui nous a bien autrement troublés : chez la femelle anaphylactisée, l'utérus isolé réagit sous l'influence de l'imprégnation de l'antigène préparant.

Cette constatation nous montre une action sur la fibre lisse commandée par le réseau sympathique local et remet en question la possibilité dans les chocs, d'une certaine influence directe de l'antigène sur les terminaisons endovasculaires des nerfs gris, dans toutes les régions de l'arbre vasculaire, comme le supposait le Dr. DROUET.

Pour déterminer la valeur relative de la participation possible de ces effets locaux dans le choc, il fallait une expérience cruciale et nous avons pensé que nous pourrions peut-être la réaliser en cherchant à provoquer le choc chez des animaux décapités.

C. — La vie organo-végétative en l'absence des centres cérébraux.

Le premier point à étudier consistait à rechercher si l'on pouvait assurer, au moins pour un temps, toutes les fonctions de la vie organo-végétative en l'absence des centres cérébraux.

Exp. I. — *Décapitation.* — La décapitation se fait en deux temps. *a*) section de la moelle au niveau de la 3^{e} ou de la 4^{e} cervicale à l'aide d'une cisaille qui agit par écrasement afin d'éviter l'hémorragie ; *b*) immédiatement après, passage d'un fort fil sous la peau, tout autour du cou et serrage énergique de ce fil qui pénètre entre les vertèbres disjointes, puis section de la peau et ensuite des masses musculaires au-dessus de la ligature.

Quand on pratique cette opération chez un cobaye, la respiration s'arrête aussitôt, le cœur continue à battre encore pendant 5 à 6 minutes au bout desquelles surviennent la cessation de toutes les grandes fonctions et la mort.

Exp. II. — *Décapitation avec respiration artificielle.* — Ce processus, débutant par l'arrêt respiratoire, il convenait de se demander comment il se déroulerait si l'on pratiquait préalablement le respiration artificielle.

Pour cela, nous avons fait construire un appareil spécial applicable aux petits animaux et représenté dans la figure ci-dessous (fig. 1).

Cet appareil est essentiellement constitué par une pompe foulante mue par un moteur électrique dont on peut faire varier la vitesse au moyen d'un rhéostat de façon à obtenir de 20 à 50 coups de piston à la minute, la course de ce piston étant, d'autre part, réglable afin de pouvoir modifier le volume d'air refoulé et le proportionner à la capacité pulmonaire des sujets soumis à l'expérience.

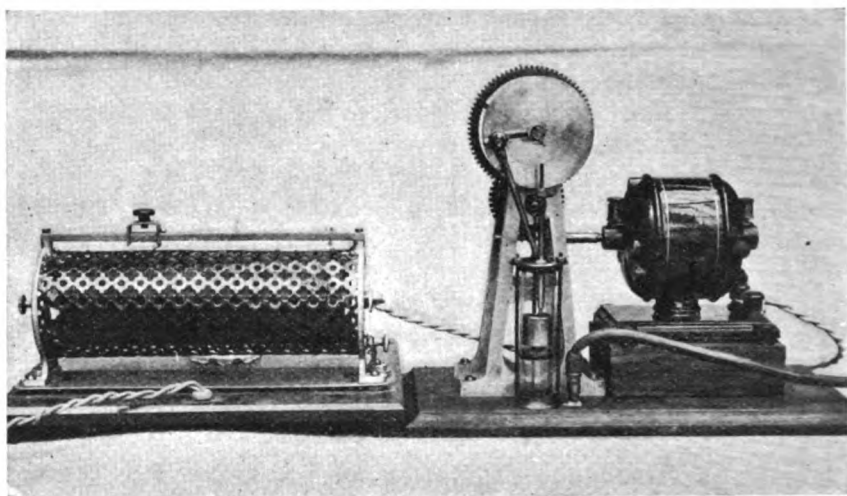



Fig. 1.

Après avoir effectué la trachéotomie chez un cobaye, fixé une canule dans la trachée et mis en fontionnement l'appareil décrit plus haut, on procède à la décapitation. On observe d'abord une brusque modification du rythme cardiaque qui devient désordonné pendant 5 à 6 minutes, puis se régularise bientôt et se maintient sensiblement normal. Quelques mouvements musculaires spontanés, incoordonnés, se produisent alors et on peut aussi les provoquer en pinçant légèrement une patte ou la peau de l'abdomen, mais ces réflexes ne persistent que pendant 7 minutes environ. Le cœur continue cependant à battre et les poumons à jouer sans grandes modifications pendant une demi heure. A partir de ce moment, la rigidité des membres apparaît et s'accentue progressivement en même temps que le déplissement pulmonaire, observé par un volet thoracique, devient de plus en plus difficile, la rigidité qui s'installe paraît s'étendre au tissu alvéolaire qui perd son élasticité, ne peut plus revenir sur lui-même pour l'expulsion

de l'air insufflé, si bien qu'à la 45^{e} minute, les mouvements passifs du poumon sont à peine perceptibles et la respiration artificielle inopérante.

Le cœur continue cependant à battre régulièrement mais de plus en plus faiblement pendant deux minutes et s'arrête enfin 52 minutes après la décapitation.

Exp. III. — *Influence de la coagulation.* — L'expérience précédente semble montrer que l'arrêt des fonctions de la vie végétative provient de ce que l'hématose devient de plus en plus précaire, par suite de la difficulté croissante de continuer la respiration artificielle, l'obstacle au jeu pulmonaire provenant sans doute de la perte d'élasticité alvéolaire.

Nous avons supposé que la rigidité musculaire qui paraît être la cause de ce phénomène pouvait être liée à des coagulations colloïdales. En pratiquant la décapitation, on fait forcément pénétrer dans la circulation des sucs musculaires qui, mélangés au plasma, tendent à le faire coaguler. Si ce raisonnement est exact, il devrait être possible de de prolonger la survie des animaux en injectant, avant l'intervention, des substances capables d'éviter ou de retarder la coagulation et de permettre ainsi le fonctionnement du poumon.

A cet effet, un cobaye étant trachéotomisé, on injecte sous la peau 5 cc. d'une solution de sulfate de zinc à 10 °/o ; on attend que l'absorption du liquide soit à peu près complète, soit environ dix minutes ; puis, la respiration artificielle étant établie, on décapite l'animal qui est placé sur une plaque chauffante de façon à éviter son refroidissement.

Après la phase d'affolement cardiaque du début, le rythme du cœur se maintient régulièrement et la respiration est facilement entretenue pendant une heure, les réflexes persistent, un simple attouchement des pattes suffit à provoquer une réaction du membre ; l'animal présente même des mouvements spontanés, il agite ses quatre pattes, se replie sur lui-même et on est obligé de le soutenir pour qu'il ne tombe pas de la table chauffante sur laquelle il est installé. Ces mouvements spontanés, à caractère convulsif, sont séparés par des temps de repos de 3 à 4 minutes.

A la fin de la première heure, le cœur faiblit ; on injecte alors sous la peau 1 cc.d'une solution de caféine à 5 °/o; moins d'une minute après, l'animal se débat assez violemment et les battements du cœur reprennent leur force et leur régularité, ce qui montre que les poisons chimiques agissent malgré la décapitation. 1 H. 7 m. après le début de l'expérience, les pattes postérieures cessent de réagir aux excitations et ne présentent plus des mouvements spontanés. Cette inertie s'étend peu à peu et gagne les membres antérieurs. Après 1 H. 20, les réflexes ont complètement disparu, mais le cœur bat encore régulièrement pendant 37 minutes, grâce à une nouvelle injection de caféine.

A aucun moment, la rigidité n'est apparue mais la respiration a été gênée par des muscosités qui encombraient la trachée et qui ont obligé à enlever la canule à plusieurs reprises pour procéder à un nettoyage trachéal, d'ailleurs malaisé et incomplet.

Le sulfate de zinc, qui s'est opposé à la rigidité cadavérique, a permis le fonctionnement pulmonaire pendant près de deux heures. Cherchant pourquoi les phénomènes vitaux ne pouvaient être prolongés plus longtemps, nous avons supposé que deux facteurs principaux de l'expérience étaient susceptibles d'intervenir pour abréger la survie : l'intoxication lente par une dose peut-être trop élevée de sulfate de zinc et l'insuffisance de la respiration due à l'obstruction mécanique par les secrétions trachéo-bronchiques.

Exp. IV. — *Avec perfectionnement de la technique.* — Pour remédier aux inconvénients signalés plus haut, nous avons construit une canule à deux branches permettant l'écouvillonnage de la trachée sans arrêter la respiration artificielle ; nous avons, en outre, placé l'animal dans une étuve dont la température a varié de 34 à 38° ; de plus, la dose de sulfate de zinc a été réduite de moitié (0 gr. 25 centigr.)

Prenant l'origine des temps (heure 0) au moment de la décapitation, les phénomènes observés se sont déroulés de la façon suivante.

Cobaye mâle de 445 gr. Température initiale 38°2. Injection sous-cutanée de 5 cc. d'une solution de sulfate de zinc à 5 °/°, 7 minutes avant la décapitation. Respiration artificielle.

0 heure — Décapitation.

0 H. 15' — Rythme cardiaque normal, température rectale sans changement.

0 H. 19' — Spasme génésique avec émission de spermatozoïdes vivants.

0 H. 30' — Température 39°8. On abaisse la température de l'étuve à 34°.

0 H. 48' — Les réflexes sont plutôt exagérés. L'introduction du thermomètre dans le rectum entraîne des mouvements de défense et, à la suite du changement apporté dans la position de l'animal, une crise de grattage très vive se produit.

1 H., 1 H. 10', 1 H. 25', 1 H. 43' — Pas de changement, les réflexes sont toujours normaux, température variant entre 38°6 et 39°1.

1 H. 52' — Le déplacement du corps de l'animal déclenche une crise convulsive aiguë.

Le moindre frôlement des poils suffit à déterminer une réaction de défense. Un courant d'air froid produit le même effet ; les réflexes sont donc très exagérés.

2 H. 15' — Crise convulsive provoquée par la prise de la température. Température : 40°6.

2 H. 22′ — Évacuation spontanée de matières fécales. Pendant une demi-heure, cette évacuation continue par intervalles et très lentement.

2 H. 45′ — Température 42°1. On arrête complètement le chauffage.

2 H. 51′ — Crise convulsive spontanée.

3 H., 3 H. 12′, 3 H. 18′ — Malgré l'arrêt du chauffage, la température se maintient vers 42°.

Une pression sur l'abdomen est suivie de convulsions qui durent 10″.

3 H. 19′ — Une crise plus violente survient pendant 30″ à la suite de laquelle les réflexes des pattes postérieures sont abolis. La pression sur la vessie fait sortir de l'urine.

3 H. 30′ — Disparition complète des réflexes, puis ballonnement progressif de l'abdomen.

3 H. 50′ — Trémulation de la patte antérieure gauche pendant 5 minutes environ.

4 H. 5 — Température 40°1. La rigidité des pattes postérieures apparaît. On rétablit le chauffage de l'étuve.

4 H. 25 — Malgré le chauffage, la température rectale s'abaisse à 39°2 et se maintient ensuite entre 39° et 39°5.

5 H. 7′ — La rigidité musculaire gagne les membres antérieurs alors que le poumon conserve cependant son élasticité et que le cœur continue à battre normalement.

5 H. 48′ — Arrêt subit du cœur. Le poumon est encore perméable mais il est bientôt atteint à son tour en s'immobilisant progressivement.

6 H. 19′ — Arrêt complet de la respiration.

Exp. V. — *Fonctionnement du rein chez les cobayes décapités.* — L'injection sous-cutanée d'une solution de bleu de méthylène, après décapitation, ne permet pas de retrouver trace de la matière colorante dans l'urine.

L'essai ayant été fait après injection préalable de sulfate de zinc anticoagulant, on pouvait craindre l'action nocive de ce sel métallique sur le rein, aussi l'expérience a-t-elle été reprise sans l'imprégnation préalable par le sulfate de zinc.

Dans ces conditions, chez les cobayes décapités, l'urine ne renferme pas la moindre trace de bleu après 45′ alors que chez les témoins non décapités, le bleu de méthylène est décelable dans l'urine au bout d'un quart d'heure.

Par contre, la décapitation n'empêche pas le passage du colorant dans la bile où on le retrouve 13 minutes après l'injection.

D'autre part, quand on administre par voie sous-cutanée 15 cent. cubes de sérum physiologique chez un cobaye normal dont la vessie vient d'être vidée artificiellement, on constate que cette vessie est

pleine 15 minutes plus tard ; si l'injection est suivie immédiatement de décapitation, bien que la masse injectée soit à peu près complètement résorbée au bout de 15 minutes, on constate alors que la vessie est encore vide.

Autres expériences. — Les essais que nous venons de mentionner ont été répétés à plusieurs reprises avec de petites variantes sur lesquelles il serait superflu d'insister. D'autre part, avant de fixer notre technique d'une façon précise, nous avons éprouvé quelques échecs provenant de l'insuffisance de la méthode et ces résultats incomplets ne sauraient présenter un intérêt suffisant pour être publiés.

Considérations qui découlent de ces expériences.

1° Chez le cobaye, la vie organo-végétative peut continuer pendant plusieurs heures en l'absence des centres cérébraux: cerveau, cervelet et bulbe, à la condition d'assurer artificiellement la respiration et d'empêcher les coagulations sanguines.

2° Le perfectionnement de la technique a permis de constater la persistance des réflexes durant 3 H. 26 après la décapitation et le fonctionnement cardio-pulmonaire pendant près de 6 H.

3° La régulation thermique ne semble plus exister chez les animaux décapités ; ils ont une tendance à se mettre en équilibre avec la température ambiante, cependant au moment où les réflexes vont disparaître, on a observé le plus souvent une hyperthermie assez considérable.

4° Dans la période préterminale, les réflexes sont très exagérés et l'exagération est plus marquée chez les sujets qui sont réchauffés que chez ceux qui sont laissés à la température du laboratoire.

5° La trémulation des pattes antérieures est un phénomène à peu près constant qui s'installe généralement au 2/3 de la phase pendant laquelle les réflexes persistent. Il est à noter que cette trémulation intéresse plus spécialement la patte gauche.

6° Au moment où les réflexes disparaissent, le relâchement des sphincters se produit, suivi bientôt d'un ballonnement abdominal considérable.

7° Il semble bien que le rein ne fonctionne pas chez le cobaye décapité et que son imperméabilité soit générale et non pas limitée à certains produits, tels que le bleu de méthylène.

8° L'absorption des liquides injectés sous la peau s'effectue cependant, malgré la décapitation, mais elle semble moins rapide que chez les animaux normaux.

D. — Choc anaphylactique en l'absence des centres cérébraux.

En possession des moyens permettant d'assurer les fonctions principales de la vie végétative, après la suppression complète des centres nerveux encéphaliques, cérébelleux et bulbaires, il nous paraissait a priori facile de déterminer la participation de ces centres dans les chocs anaphylactiques ; il suffisait pour cela de comparer les effets des doses déchainantes chez les cobayes sensibilisés, décapités ou non décapités, toutes les conditions des expériences demeurant identiques, d'autre part.

Nous nous sommes bien vite aperçus que la réalisation de ce programme était moins simple que nous ne l'avions supposé.

Tout d'abord, nous avons remarqué que l'injection préalable de sulfate de zinc, provoquant la formation d'un floculat plasmatique vaccinait, dans une certaine mesure, les animaux préparés contre les effets de la dose seconde d'antigène. Nous avons donc dû renoncer à l'emploi de ce produit et nous contenter de recourir à la respiration artificielle qui ne nous assurait la persistance des fonctions organiques que pendant 30 à 40 minutes.

D'autre part, dans un premier essai, l'injection intracardiaque de l'antigène, chez un cobaye préalablement décapité, ayant entraîné la perte de l'élasticité du poumon et son blocage presque immédiat, notre théorie de l'origine centrale des chocs se trouvait fortement compromise par ce résultat, à la suite duquel nous avons failli l'abandonner pour nous rallier à la conception soutenue par le Dr. DROUET ; nombre de faits constatés antérieurement devenaient alors inexplicables et, avant de conclure, nous nous sommes demandés si les troubles apportés, dans la régulation de l'innervation cardiaque par la décapitation ne diminueraient pas la tolérance du cœur pour les injections dans les cavités de cet organe.

Nous avons donc procédé à une expérience témoin, chez un sujet privé de ses centres cérébraux, en injectant dans le cœur gauche 1 cc. de sérum physiologique. Cette injection qui est toujours parfaitement bien tolérée par le cobaye, a déterminé, après décapitation préalable, la rigidité instantanée du poumon, de sorte que, dans l'expérience précédente, ce n'était nullement l'antigène qui se trouvait en cause, mais simplement le fait de pratiquer une injection dans le cœur.

Ces résultats nous montrent une fois de plus combien l'interprétation des phénomènes expérimentaux est délicate et peut conduire facilement à des erreurs ; ils constituent un argument de plus en faveur de la nécessité dans laquelle le biologiste se trouve de ne jamais conclure sans avoir procédé à des expériences témoins dans lesquelles une seule des conditions de l'opération a été modifiée.

Exp. VI. — *Effets de l'injection déchaînante chez le cobaye sensibilisé et décapité.* — L'introduction d'une aiguille dans le cœur du

cobaye privé de ses centres, suffisant à provoquer l'arrêt instantané du poumon et du cœur lui-même dans 80 °/° des cas environ, nous avons injecté l'antigène dans la jugulaire.

On prend deux cobayes de 430 et 450 gr. sensibilisés deux mois auparavant au moyen de l'ovalbumine ; l'un d'eux pris comme témoin reçoit dans la jugulaire 1/2 cc. de solution d'antigène à 1,5 °/₀ et succombe en 1 minute 1/2 avec les symptômes et les troubles circulatoires du choc suraigu ; à l'autre cobaye, soumis à la respiration artificielle et décapité, on administre par la même voie 1 cc. 5 de la même solution, soit trois fois la dose mortelle ; le seul symptôme observé consiste en un péristaltisme intense qui débute dès la 3ᵉ minute ; on voit certaines anses intestinales soulever la paroi abdominale.

Les réflexes persistent comme chez les sujets normaux décapités non traités par le sulfate de zinc. La mort par rigidité pulmonaire, suivie d'arrêt du cœur, survient de la même manière et dans le même délai et à l'autopsie, on ne constate pas la vasodilatation considérable des vaisseaux viscéraux qui s'observe dans les chocs, mais seulement une légère hypérhémie intestinale.

En résumé, exception faite du péristaltisme, il n'y a aucune différence dans la façon dont réagissent un animal normal et un sujet sensibilisé après la décapitation immédiatement suivie d'une injection déchaînante. Les centres cérébraux paraissent donc bien jouer un rôle capital dans le choc anaphylactique.

Nous nous sommes assurés que l'injection d'ovalbumine chez le cobaye non sensibilisé et décapité n'apportait aucune modification dans les phénomènes enregistrés.

Exp. VII. — *Choc anaphylactoïde chez les animaux décapités.* — Des cobayes, soumis à la respiration artificielle, puis décapités et réchauffés, ne paraissent aucunement influencés par l'injection intravasculaire de 1 cc. 5 d'une suspension de sulfate de baryte, supérieure à la dose mortelle chez des sujets témoins non soumis à ce traitement.

La survie est aussi longue, on n'observe aucun symptôme, ni aucune lésion nécropsique. Les résultats sont semblables, que l'injection soit poussée dans la jugulaire ou dans le bout central de la carotide.

DISCUSSION DES RÉSULTATS ET CONCLUSIONS.

Ces dernières expériences relatives aux chocs anaphylactiques et anaphylactoïdes ont été répétées à plusieurs reprises et toujours avec les mêmes effets et il semblerait que l'on soit autorisé à en conclure que les centres cérébraux sont absolument indispensables à la manifestation des chocs.

Il convient cependant de faire encore une réserve : lorsqu'on procède à la décapitation, on fait invariablement tomber la pression artérielle. Or, on sait que la saignée, qui conduit aussi à la chute

de la tension, constitue un moyen d'empêcher la production de la crise anaphylactique ou anaphylactoïde.

Il était donc tout indiqué de chercher à relever la pression sanguine des animaux décapités au moyen d'injections de sérum artificiel, et de voir, si les effets des injections antigéniques n'apparaîtraient pas après ce relèvement. C'est ce que nous avons tenté sans aucun succès.

Malgré cela, notre expérimentation laisse encore subsister un léger doute relatif à l'influence des conditions nouvelles créées par la décapitation. Néanmoins, elles paraissent s'accorder dans leur ensemble avec toutes les constatations antérieures pour confirmer la notion du rôle capital que jouent les centres cérébraux dans la production des chocs anaphylactiques et anaphylactoïdes.

Cependant, quelques faits demeurent troublants et semblent bien indiquer que si les phénomènes vaso-moteurs qui constituent la manifestation dominante des chocs ont leur point de départ au niveau des centres supérieurs, les floculats sont aussi capables d'exercer leur action excitatrice sur les terminaisons nerveuses endovasculaires.

Les effets de l'antigène sur l'utérus isolé viennent à l'appui de cette hypothèse et nous pouvons encore signaler, en faveur de ce processus, les deux faits suivants :

Au cours de l'expérimentation sur les animaux décapités, nous avons remarqué que, quand on arrête la respiration artificielle, l'hématose ne se faisant plus, le sang se charge d'acide carbonique et des convulsions intenses surviennent que l'on peut faire cesser aussitôt par reprise de la respiration. Les centres n'interviennent pas dans ces conditions, puisque l'animal en a été privé et le phénomène a nécessairement son origine dans les vaisseaux mêmes.

On peut se demander alors si les mouvements convulsifs des chocs ne procéderaient pas d'un mécanisme local analogue.

Enfin, les contractions post-mortelles de l'intestin étudiées par WARMOES (1) sont des phénomènes qui se déroulent en l'absence de toute circulation et qui relèvent vraisemblablement d'une excitation locale par les floculations qui prennent naissance après la suspension des échanges vitaux et de l'hématose.

Il nous semble donc rationnel de conclure que l'action exercée par les floculats anaphylactiques ou autres sur les terminaisons endovasculaires du sympathique ou du système nerveux, en général, est complexe.

L'effet vasomoteur qui constitue le phénomène capital du choc paraît bien avoir sa source au niveau des centres, mais d'autres manifestations secondaires, comme les convulsions et l'excitation de la fibre lisse, se produiraient par des influences locales.

---

(1) F. R. WARMOES, Les contractions post-mortelles de l'intestin. *Archives Internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie*, 1925.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN.
DIRECTEUR : PROFESSEUR M. IDE.

LES EXCITATIONS MÉCANIQUES ET PHYSIQUES SUR LES ORGANES IN VITRO

PAR

ANDRÉ SIMONART.

Préliminaires.

L'étude des organes isolés, limitée longtemps au cœur de grenouille, a pris une expansion énorme depuis que MAGNUS l'étendit à l'intestin, la matrice, etc.

Quoique travaillé à outrance dans les laboratoires de pharmacodynamie, l'organe isolé est encore plein d'énigmes.

Dans un récent travail, DIXON et MARSHALL de l'école de Cambridge disent :

« The isolated uterus suspended in Locke's fluid is so sensitive to trifling alterations in the composition of the fluid that the upmost care is required in drawing conclusions from experiments in which tissue extracts are added directly to such a preparation ».

Jadis un de nos prédécesseurs au laboratoire de Louvain, le Dr. FRANÇOIS, expérimentant sur l'uterus, en était arrivé à la même appréciation, tant les résultats étaient souvent discordants. Par exemple, il trouvait que parfois deux cornes utérines du même cobaye réagissaient au même réactif de façon contradictoire, l'une corne se contractant et l'autre se relâchant après la même addition de matière étrangère. Autre exemple : une matrice mise dans le liquide de Locke répond par un spasme quand on y ajoute du sang de coba e, et une matrice mise dans son sang dilué au quart, montre le même spasme quand on y ajoute du liquide de Locke.

Il y a des facteurs qui nous échappent totalement. Peut-être interprêtons-nous de façon erronée certaines conditions de survie, usuellement appliquées ? Disons tout de suite que la condition expérimentale que nous visons ici est une de celles qui n'ont presque pas été discutées : *la charge en oxygène du bain.*

Et ce travail a pour but de montrer qu'au moins la *majeure* partie des effets du barbotage d'oxygène (ou d'air) a une signification

indépendante du jeu respiratoire des cellules. Dès lors, l'existence d'un nouveau facteur, très influent sur les réactions des organes isolés, modifiera peut-être l'interprétation de beaucoup de phénomènes observés.

Historique de l'oxygénation.

KURDINOWSKY, contemporain des premiers travaux de MAGNUS, n'amène pas l'oxygène en contact immédiat avec l'organe en perfusion; il emploie, en effet, un mode d'irrigation qui lui permet de saturer d'oxygène le liquide de nutrition avant son contact avec l'organe.

Nous ne pouvons malheureusement pas juger de l'activité de ses uterus, car les graphiques n'indiquent ni le temps, ni la multiplication (tambours de Marey).

Lorsque MAGNUS innove sa méthode simple pour l'intestin *in vitro*, il lance un courant d'oxygène qui barbote à travers le bain ; il reproduisait les conditions de COHNHEIM qui maintenait en survie des anses intestinales dans du sang traversé par des bulles d'oxygène. Puis pour les bains employés, MAGNUS montre que le manque d'oxygène entraîne après deux heures ou plus, l'asphyxie de l'intestin : l'organe s'arrête en relâchant ses fibres musculaires longitudinales, et en contracturant ses fibres circulaires ; toutefois, dès la suppression de l'oxygène, les contractions diminuent notablement d'ampleur, et le tonus faiblit.

Jusqu'à ces dernières années, la majorité des auteurs admettait que la présence d'oxygène est *nécessaire* et que sa soustraction amenait rapidement une chute de tonus et l'arrêt des contractions. En 1920, ATHIAS signale que tous les uterus pris après l'ovariectomie totale, répondent par un raccourcissement à toute augmentation du débit d'oxygène.

En 1921, HAMMET, se basant sur les expériences d'ALVAREZ, veut régler le nombre de bulles de gaz à livrer par seconde !

Ces derniers temps pourtant, certaines remarques faites par divers auteurs laisseraient soupçonner, que l'action de l'oxygène n'est pas aussi simple.

En 1923, paraissent deux travaux qui, tout en traitant d'autres sujets, posent nettement la question.

EVANS et UNDERHILL, avant de commencer la relation de leurs expériences sur l'effet des variations du pH dans les solutions nutritives pour fibres lisses, notent l'influence du courant d'oxygène sur l'uterus du cobaye.

Les faits qu'ils exposent sont les suivants :

1° Le courant d'oxygène exerce une action mécanique sur l'uterus; l'hydrogène ou l'azote provoquent le même effet.

2° La suppression du courant d'oxygène se traduit, sur l'uterus, dont le tonus est généralement bas, par une contracture de l'organe,

et sur l'uterus contracturé à l'aide d'un poison, par exemple, par un relâchement.

3° Le fait de tapoter la paroi du vase, ou de passer une légère brosse sur la surface extérieure de l'organe, produit également le relâchement.

Par contre GROSS et CLARK, étudiant sur l'intestin de rat et de lapin l'effet de drogues en corrélation avec l'oxygène, nous disent :

« The effect of cutting off the oxygen or air were not due to any mechanical effect, for the substition of oxygen by a stream of nitrogen produces exactly the same effect as did the simple cutting off the oxygen supply. »

Pour eux, il n'est pas question d'effet mécanique et les deux premiers points de leurs conclusions sont :

1° L'interruption de l'apport d'oxygène ou son remplacement par de l'azote, cause immédiatement une chute du tonus de l'intestin isolé.

2° Le manque d'oxygène n'influence pas les contractions. (Pendelbewegungen.)

Voilà donc deux écoles anglaises en contradiction sur cette question pourtant primordiale.

Il s'agit, il est vrai, d'organes différents: l'uterus de cobaye pour EVANS et UNDERHILL, l'intestin de rat ou de lapin pour CLARK et GROSS.

En Amérique, nous voyons HOSKINS ET HUNTER se préoccuper de la question et expérimenter sur des intestins de rat « longitudinal segments » : ils comparent l'action des bulles d'oxygène et l'excitation mécanique : celle-ci est produite par les tractions d'un fil attaché d'une part au bout de l'intestin et l'autre part à un trembleur électrique.

Souvent l'oxygène agit plus vivement que les tractions tremulantes du fil : mais comme les auteurs ne comparent pas les bulles d'oxygène à des bulles d'autres gaz, nous nous demandons de quel droit ils attribuent les effets de ces bulles à leur excitation mécanique, plutôt qu'à l'action chimique de l'oxygène. Leurs expériences restent donc sans solution : nous constatons seulement que la question du réflexe mécanique les préoccupe aussi.

Nos expériences n'ont pas été entreprises dans l'intention de lever la contradiction entre les écoles anglaises; c'est au cours d'expériences sur les divers éléments chimiques du bain nutritif que nous nous sommes aperçu des curieux effets de tout *barbotage* gazeux à travers ce bain. Et grâce à nos variations de bain nous avons pû étendre beaucoup plus loin les résultats de nos investigations, comme l'indiqueront nos conclusions.

Nos observations ont porté d'abord sur l'uterus de cobaye, nous les avons étendues ensuite à l'intestin de lapin, après le cœur de grenouille : ce sont les deux objets de prédilection, pour toutes les études d'organes isolés.

Chapitre I.

Uterus de cobaye.

Nous avons toujours expérimenté sur l'organe durant les quatre premières heures après la mort.

Nous n'avons jamais tenté de réaliser, ni même désiré obtenir, le maximum de longévité pour l'organe, convaincu que des modifications profondes se produisent progressivement par autolyse, osmose, etc. Il est évident que tout l'organe ne meurt pas d'une minute à l'autre, les graphiques que des auteurs nous présentent durant des survies de six à 32 heures sont suggestifs à cet égard.

Il nous semble que les expériences sur tout organe isolé doivent, sauf exception, se faire durant les trois ou quatre premières heures, alors que la totalité des éléments susceptibles de jouer un rôle quelconque, sont encore capables de réagir. Seule l'hypothèse, très aléatoire, qui attribue toutes les réactions aux fibres lisses, pourrait légitimer des délais prolongés entre l'isolement des organes et l'expérimentation.

Pour échapper, autant qu'il est possible, aux dispositions particulières et variables que l'excitation des dernières minutes peut provoquer chez l'animal (Hoet) nous avons sacrifié l'animal toujours de la même manière ; après avoir évité d'effrayer l'animal en le capturant nous l'assommons d'un seul coup sur la nuque ; puis l'animal est égorgé et saigné à blanc. Et malgré tout, il se produit, encore beaucoup de variations dans la réactivité. Par contre, nous n'avons pas à distinguer ici entre utérus gravides et non gravides. Au début nous eûmes soin de choisir des femelles isolées du mâle : plus tard nous employions aussi des femelles fécondées. Au point de vue des effets envisagés ici le résultat ne différait que d'après la composition chimique du bain.

Dans toutes nos expériences ce bain était à une température de 38° à 39°, sauf le cas où nous étudiâmes les variations brusques de température.

Les *graphiques* indiquent la *contraction*, quand la *ligne monte* : l'ampleur des variations réelle de l'organe, est multipliée par 2.

Le *temps* est uniformément de 1 centim. par minute. La *composition* chimique du bain est le facteur principal des variations observées dans l'effet du barbotage. Les modifications chimiques que nous introduisons dans le bain ne portaient que sur la proportion de Ca, de K et de Mg, leur proportion pouvant varier de 0 à 2 fois la dose adoptée comme physiologique.

Nous ne dirons pas plus ici de cette composition chimique du bain, cela rentre dans une question très complexe qui commence à être fort débattue surtout dans la physiologie du cœur isolé.

Nous en étions arrivé à prévoir quelle addition de sel modifierait les réactions au barbotage, après avoir observé les ***allures spontanées*** que prend un uterus dans la solution à 9 °/oo de NaCl pendant les premières minutes de sa survie. Le bain nutritif recevait alors l'un ou l'autre ion, progressivement et un peu par tatonnement; puis nous faisons barboter à l'essai soit le O_2, soit l'H_2, souvent l'un après l'autre pour voir comment l'organe réagit.

Nous donnerons en annexe à la fin du mémoire deux exemples de compositions successives de ces bains : mais ce ne sont là que des exemples, car d'autres matrices exigent d'autres proportions de sels pour produire des effets similaires.

Notre O était le produit commercial employé en métallurgie et livré en canons : le H était produit extemporanément par $Zn + H_2SO_4$ dans un appareil de Kipp et il était dûment lavé par un passage à travers une solution de KOH. Le bain comportait 200 cc. de liquide et le gaz était amené au fond du vase par un tube en verre en évitant seulement que les bulles ne touchent l'organe suspendu. Les gaz avant d'arriver là, traversaient un serpentin plongé dans le réservoir à température constante, et se trouvaient ainsi à la même température que le bain nutritif.

RÉSULTATS.

1° *Barbotage excitant.*

Le plus souvent le barbotage d'oxygène (ou d'hydrogène) agit comme un vif excitant : nous ne dirons pas comme EVANS ET UNDERHILL « que l'uterus relâché, se contracte tandis que l'uterus contracturé se relâche, sous l'influence du barbotage », non, dans les bains plus ou moins chargé de calcium, on observe toutes les formes d'excitation.

Dans la série de graphiques ci-dessous, grâce à l'oxygène, nous voyons en 1, un uterus très relâché et quasi dépourvu de contractions, faire de belles contractions sans changer de tonus.

En 2, la même matrice passe du relâchement absolu à la contracture, puis commence des oscillations qui la maintiennent pourtant près du maximum de raccourcissement.

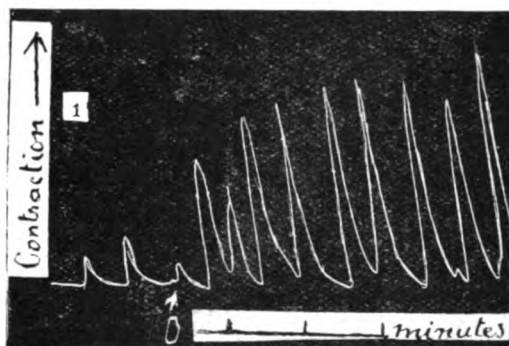
Enfin en 3, un état similaire à la fin de 2 est transformé en contracture tétanique,

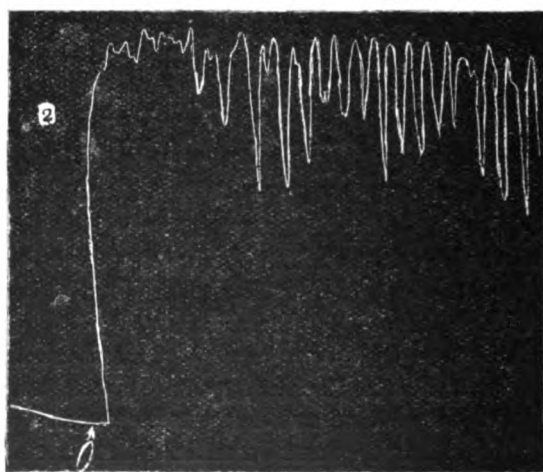
Ces effets sont immédiats, c'est-à-dire qu'ils se produisent dans toute leur intensité dans les 5 à 10 secondes après le début du barbotage.

Ces trois résultats s'obtiennent facilement sur le même organe en modifiant à peine la composition du bain en fait de sels calciques et sans dépasser de loin les limites de ce qu'on considère comme phy-

siologique. Seulement d'après le stade de survie et d'après les matrices, ce sont des doses très différentes qui produisent ces effets.

L'effet excitant peut-être moins violent, tout en restant net.

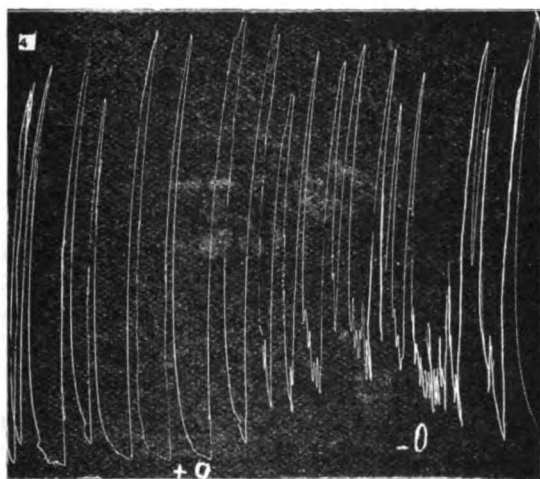
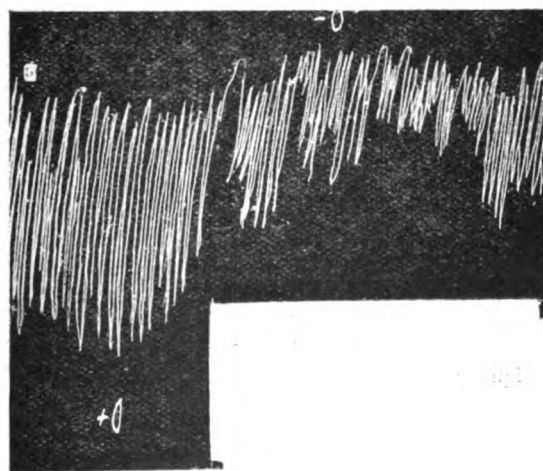
La matrice, page 7, présentait ces belles contractions qui sont considérées comme idéales pour la matrice, amples, bien rythmées,

Graphique 1.

Graphique 3,

Graphique 2.

Matrices de cobaye. — Modes d'excitation par les bulles d'oxygène.
Gr. 1. : augmentation des contractions, tonus non changé.
Gr. 2. : contractions et tonus influencés.
Gr. 3. : tonus excité, contractions abolies.

assez rapides, environ 1 par 40 secondes. Pourtant cette matrice ne recevait pas d'oxygène.

Dès que dans le gr. 4 nous introduisons celui-ci, l'allure s'accélère,

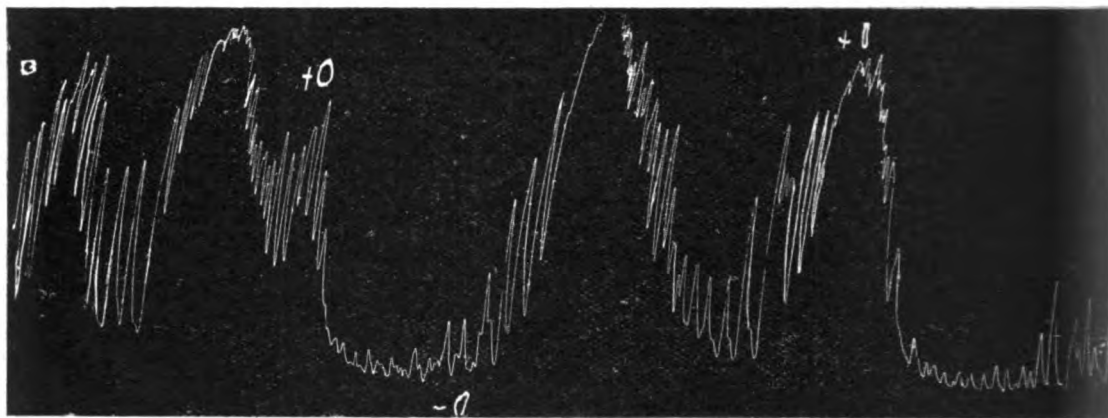
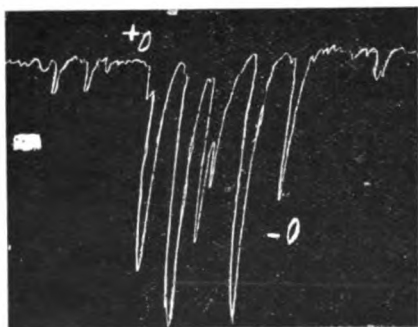
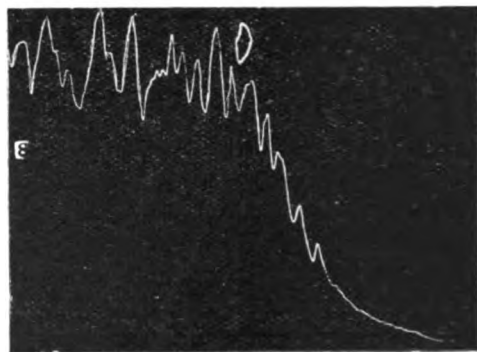
de petites contractions partielles coupent la période d'extrême allongement, on dirait la matrice soumise à une série d'excitations. Cet état disparaît presque aussitôt si le barbotage cesse, quoique la saturation d'oxygène d'un bain de 200 cc. ne puisse pas être détruite en quelques secondes.

Graphique 4.

Graphique 5.

Matrice de cobaye.

Gr. 4 : l'oxygène relève le tonus et modifie les contractions.

Gr. 5 : le même utérus ; malgré l'élévation du tonus, l'oxygène reste excitant, la suppression de O n'amène pas le relâchement.

La même matrice dans le gr. 5 est bien près d'en arriver à un rythme accéléré et rare, parce que plus près de l'état de contracture,

elle ne se relâche plus entièrement; pourtant au début de cette courbe elle ne reçoit aucun oxygène. L'introduction du O restreint encore le relâchement et diminue ainsi l'ampleur des contractions longitudinales. Chose rare, ici la cessation du barbotage en — O ne ramène pas la matrice à son état antérieur.

Graphique 6.

Graphique 7.

Graphique 8.

Matrices de cobayes.
Gr. 6 : l'oxygène inhibe le tonus.
Gr. 7: il abaisse le tonus et améliore les contractions.
Gr. 8 : il annihile tonus et contractions.

2° *Barbotage inhibant.*

Il nous était généralement facile de constituer un bain pour chaque matrice dans lequel l'effet du barbotage d'oxygène serait directement contraire à celui que nos venons de voir. Ce n'est

qu'une question de prédominance de sels. Même après avoir présenté une réaction d'excitation, une même matrice après une légère modification de bain présentera une réaction inhibante au même barbotage.

Tous les stades de l'inhibition peuvent se retrouver aussi comme le montre les graphiques 6, 7 et 8.

En 6 nous voyons la matrice exécuter un double mouvement : outre ses contractions rapides de 3 à 4 par minute, une espèce d'onde de Traube de 3 à 4 minutes emporte tout le graphique. Ces grandes ondes sont aussi sous l'influence de la composition du bain : elles vont même souvent jusqu'à des spasmes prolongés de 5 à 10 minutes alternant avec des relâchements tout aussi longs. Nous les avons provoqué et les avons fait disparaître quasi à volonté par des changements de composition de bains dont nous parlerons dans un travail ultérieur. Certains auteurs, comme ATHIAS, ne s'en sont jamais libérés; d'autres, comme MAGNUS, n'en ont presque jamais rencontré. Mais ce n'est pas le moment de nous attarder sur ce mécanisme.

En 6 nous voyons le barbotage à l'oxygène couper brusquement l'ondée ascendante une première fois, la suspension du barbotage en − O montre un retour immédiat des doubles contractions : un second barbotage en + O coupe l'onde à son acmé, et le maintien du barbotage tient le tonus à sa limite inférieure, quoique certaines contractions reprennent après quelques minutes.

En 7, la matrice est en contracture avant le passage du O : celui-ci coupe cet espèce de tétanos et laisse apparaître des relâchements en pointe aigue vers le bas. Dès qu'on cesse le barbotage l'état de contracture reparaît.

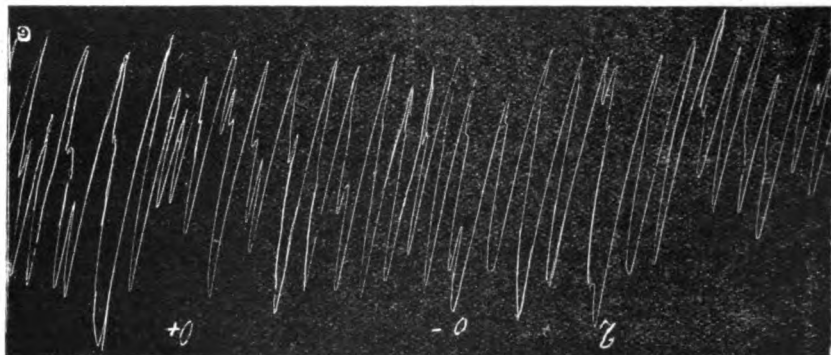
En 8, l'action du barbotage est tel qu'on croirait à l'introduction d'un poison paralysant de la musculature.

Une matrice qui a présenté ce phénomène soit dès le début de sa survie, soit après des changements de bain, sera toujours facile à ramener aux conditions où l'excitation par le barbotage reparaît : il suffira de faire prédominer le calcium.

L'inverse est toujours plus délicat à obtenir : toutefois durant deux heures de survie, on arrive à trouver le bain favorable à l'inhibition pour la généralité des matrices qu'elles soient *fécondées ou non*. Nous possédons d'innombrables courbes d'inhibition parce que ce sujet nous a servi à d'autres études : ces courbes-ci ne sont donc pas exceptionnelles.

3° *Barbotage sans effet.*

Il semble naturel que entre les deux extrêmes on trouve l'état intermédiaire où le barbotage ne soit plus ni excitant, ni inhibant. Avec l'adjuvance de certains poisons, ou après un barbotage prolongé, on y arrive, quoique l'état d'équilibre bien exact soit assez rarement réalisé.

Toutefois dans le graphique 9, la matrice se montre bien indifférente au barbotage : en cachant de la main le niveau des signes de la partie qui se trouve à gauche de T, on ne devinerait plus où le barbotage a commencé, ni où il a cessé.

Graphique 9.

Matrice de cobaye : Oxygène indifférent.
En T, le tonus monte par le fait de *toucher* l'organe, quoique l'excitation des bulles gazeuses soit *nulle*.

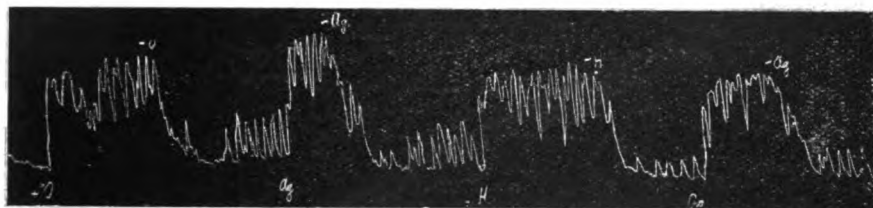
4° *Oxygène — hydrogène — agitation.*

Nous avons modifié et étendu les résultats de EVANS et UNDERHILL sur les effets du barbotage, mais nous devons confirmer entièrement leurs vues quand ils affirment que l'oxygène peut être remplacé par un gaz inerte, ou que le barbotage d'un gaz peut à son tour être remplacé par un simple tapotage superficiel du liquide ou du vase qui le contient. Ce phénomène surprend les premières fois qu'on l'observe : l'idée que l'oxygène joue là un rôle chimique est si ancrée dans l'esprit qu'on a de la peine à s'en libérer. Si un doute restait sur la valeur purement mécanique du barbotage, l'effet de la plus légère agitation du liquide devrait lever tout doute.

Et nous n'avons *jamais* trouvé les matrices de cobaye en défaut. L'effet que produisait un barbotage à l'oxygène, qu'il fut *excitant* ou *inhibant*, se produisait chaque fois encore quand on remplaçait l'O par le H, pourvu qu'on n'ait rien changé à la composition du bain.

Le graphique 10 montre une matrice pour laquelle le premier apport d'oxygène paraît la sauver de l'inertie ; la cessation du passage d'oxygène affaiblit immédiatement le tonus et les contractions. De pareils figures vues isolément ont fait penser jadis que le barbotage d'oxygène apportait un élément nutritif indispensable.

Or nous voyons plus tard l'hydrogène donner les mêmes résultats que l'oxygène, et deux fois le tapotage léger de la surface du bain avec

une baguette de bois produit encore les mêmes effets, aux signes Ag. Dans ce graphique 10 le trouble mécanique est excitant ; dans le graphique 11, les mêmes causes sont inhibantes.

Graphique 10 (réduit à 1/2).

Matrice de cobaye.
+ O et — O : apport et suppression de l'oxygène.
Ag et — Ag : agitation du bain et sa cessation.
+ H et — H : apport et suppression de l'hydrogène.

Cette matrice a montré dans une partie antérieure non reproduite que le barbotage à l'oxygène était inhibant comme dans le gr. 8. Or le graphique 11 montre 1° l'inhibition nette par les bulles d'hydrogène, en H et 2° la paralysie brusque qui frappe l'organe dès que le tapotage sur la surface du bain se pratique. Le passage d'hydrogène a été interrompu dès qu'il eut présenté son effet indubitable (pour explorer la sensibilité à l'attouchement), mais l'agitation du liquide par tapotage a été maintenu quelques minutes, pour voir jusqu'où irait la paralysie ; on voit qu'elle est aussi profonde que pour l'oxygène du graphique 8, et on croirait l'organe empoisonné au plus haut degré.

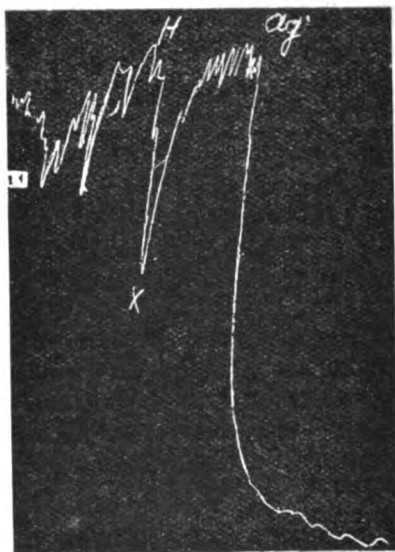
D'ailleurs en ceci l'organe est *fidèle* ; on ne peut prévoir de façon certaine la réponse que fera un organe lors d'une addition chimique au bain (il faut toujours un peu de tatonnement), mais quand il a montré son effet du barbotage d'oxygène, il répondra sans exception de la même façon au barbotage d'hydrogène.

Effet donc de l'ébranlement mécanique au lieu de trouble nutritif : d'ailleurs la rapidité avec laquelle l'organe répond à tout passage de bulles de gaz à travers son bain est bien peu comptatible avec la notion d'imbition chimique ; et en outre la *brusquerie* de ces bonds, atteignant d'emblée un maximum, ne répond pas bien à une fonction nutri tive qui doit être graduelle.

5° *Température, frottements, piqures.*

Evans et Underhill semble admettre que tout ébranlement mécanique produit le même effet que le passage de bulles gazeuses à travers le bain.

Nous avons trouvé les mêmes effets pour l'agitation légère du liquide sans toucher l'organe : cette agitation que nous marquons

par *ag* dans les graph. 10 et 11 était réalisée en battant doucement avec une baguette la surface liquide du bain ou en faisant manœuvrer dans la profondeur du bain même un agitateur à ailettes sans toucher l'organe ; dans les deux cas l'effet est le même que par le barbotage, qu'il s'agisse d'excitation ou de relâchement.

Graphique 11,

Matrice de cobaye.

En H, les bulles d'hydrogène inhibent.

En X, l'hydrogène est supprimé, un attouchement direct au lieu d'inhiber comme les bulles gazeuses provoque de la contracture.

En Ag, la simple agitation du liquide inhibe comme les bulles gazeuses.

Mais il n'en est plus ainsi dès qu'on touche l'organe soit avec une paille, soit avec un pinceau de pharmacie, soit en piquant avec une fine aiguille. Nous n'avons *jamais obtenu l'inhibition* par ces causes, alors que le barbotage l'obtenait : ou bien l'organe ne répondait guère à l'attouchement, ou bien il donnait une contracture.

Dans le gr. 9, l'organe est indifférent au barbotage d'oxygène et un attouchement avec une paille en T relève le tonus. Dans le gr. 11, un attouchement en X provoque un spasme vif avec contractions rapides alors que le barbotage en H, quelques secondes plus tôt, et l'agitation en *Ag* une minute plus tard donnent la plus nette inhibition.

La représentation graphique donnée par Evans et Underhill d'une expérience où se serait produit un relâchement, n'est pas convaincante. Une matrice qu'il met en contracture par un poison, subit

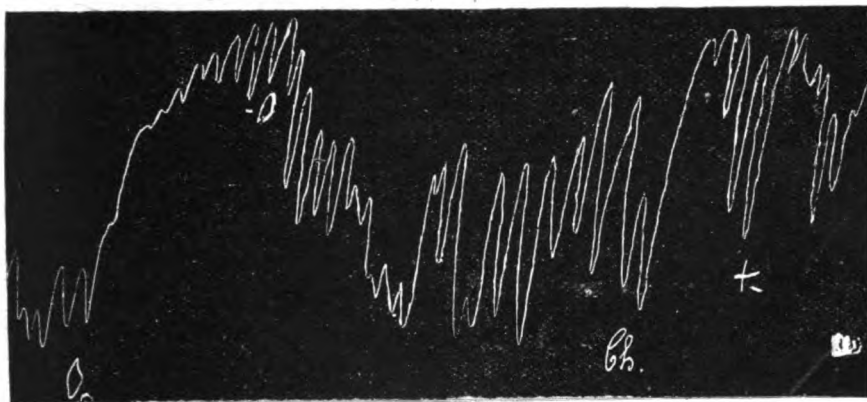
un faible allongement quand il la touche. Il est bien probable que sa façon de faire différait de la nôtre.

En tous cas on ne peut pas affirmer que *toute excitation mécanique* donnera les mêmes effets que le passage de bulles gazeuses. Le barbotage semble un excitant bien plus délicat, puisqu'il donne lieu à des manifestations moins uniformes.

Les modifications de ***température*** brusques de un demi degré ou de un degré, obtenues en additionnant du liquide sans remous, par une pipette plongeant au fond du bain, donnent des effets sur lesquels il vaut aussi la peine de s'arrêter un moment.

Un réchauffement *lent* modifie *peu* les contractions entre 34° et 40°.

Le *réchauffement brusque* sans sortir de ces limites de température optimale produit généralement le même effet que le barbotage.

Le graphique 14 montre d'abord que la matrice est excitée par les bulles d'oxygène: ensuite en *Ch*, une addition de liquide chaud pro-

Graphique 14.

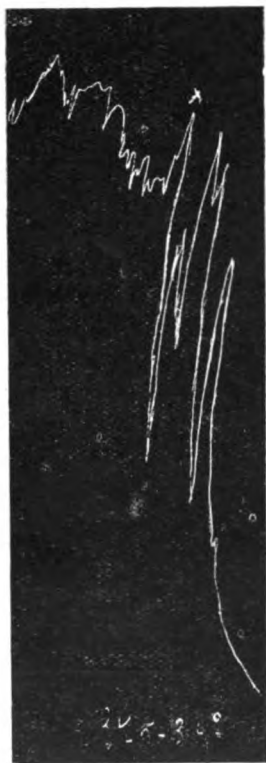
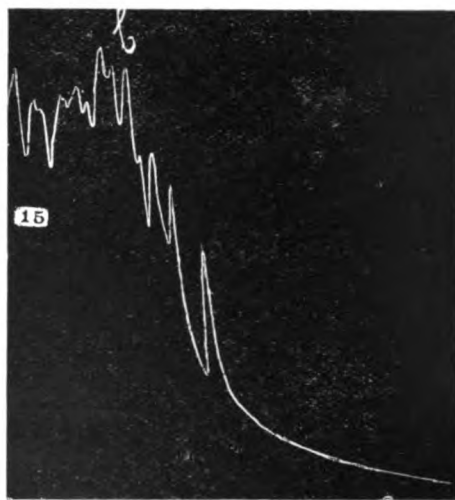
Matrice de cobaye.

Gr. 14, alors que l'oxygène est excitant, la hausse de 1 degré en Ch excite aussi ; une seconde hausse d'un demi degré produit un nouveau spasme.

voque un spasme qui s'efface bientôt, une seconde addition renouvelle le spasme. Mais les graphiques 13 et 15 montrent des relâchements qui confinent à la paralysie totale pour un réchauffement brusque dans les limites des températures optimales : car 39° est aussi propice aux contractions que 37,5°. Seulement ces matrices montraient la même inhibition formidable pour une simple agitation (graph. 11).

Le froid provoque des résultats plus complexes. Lorsque le courant d'oxygène et la chaleur sont relâchants, un refroidissement du bain met l'organe en contracture. Toutefois il se présente d'autres cas, par exemple : la chaleur a été excitante, ainsi que le barbotage, souvent

un léger refroidissement amène l'inhibition, mais une baisse plus notable de température au contraire raccourcit la matrice. Ce raccourcissement au froid est probablement à rapprocher du raccourcissement que l'organe présente toujours, lorsqu'on vient de l'enlever à l'animal et aussi du raccourcissement qui se produit invariablement chaque fois que pour renouveler le bain, l'uterus se trouve exposé à l'air, durant quelques instants.

Nous avons en vain cherché à trouver d'autres excitants physiques.

Graphique 13.

Graphique 15

Gr. 13, la température monte de 37,5 à 39° : inhibition totale. Ce graphique a été obtenu un peu avant le gr. 11, où l'on voit les excitants mécaniques (H et Ag) être inhibants.

Gr. 15, en C une légère hausse de température inhibe tonus et contractions ; dans ce bain l'oxygène inhibait aussi.

Des aiguilles de Radium et des plaques chargées de plusieurs milligrammes de Radium ne provoquaient aucun phénomène. Le courant induit amené par des électrodes des 2 côtés de l'organe, s'éparpillait plutôt à travers le bain sans atteindre l'organe. Mais les résultats constatés plus haut nous autorisent déjà à dire que ***toutes les formes d'excitation physique ne produisent pas les mêmes effets.***

5° *Oxygène comme élément chimique.*

Quoique nous ayons constaté que le passage d'oxygène à travers le bain nutritif joue un rôle manifestement indépendant de la nature de ce gaz, nous ne prétendons nullement que tout le rôle de l'oxygène soit réduit à cet effet physique.

Loin de là : quand on prolonge le passage soit de l'oxygène, soit de l'hydrogène, on voit apparaître plus ou moins vite des signes qui relèvent probablement du rôle désasphyxiant de O. Il y a là deux phénomènes tout à fait distincts.

Citons des exemples rencontrés.

Pour ces expériences nous mettons le bain nutritif en vase clos de façon à pouvoir créer au-dessus de la surface liquide une atmosphère d'oxygène ou d'hydrogène ; la figure ci-contre fait comprendre le fonctionnement de ce bain.

Dans le graphique 12, nous avons au début un bain saturé d'oxygène retenu en vase clos, mais il n'y a plus aucun barbotage. En β le barbotage à l'hydrogène est très excitant et en γ avec sa cessation les contractions s'arrêtent aussi ; en δ le barbotage à l'hydrogène est recommencé, mais de façon à remplacer progressivement tout l'oxygène du vase clos par de l'hydrogène. Après une dizaine de minutes les contractions se sont bien affaiblies en ε jusque η. Alors en η, un barbotage d'oxygène ranime vivement les contractions : la suppression du barbotage d'oxygène en θ ramène le repos, mais cette fois le bain est bien oxygéné et nous voyons en ι le barbotage d'hydrogène avoir les mêmes effets violents que en β.

Graphique 12 (réduit au 1/3).

Matrice de cobaye. — Expérience en vase clos.

α : atmosphère d'oxygène pur sans barbotage.
β : barbotage d'hydrogène
γ : suppression de ce barbotage.
δ : barbotage de H et suppression progressive de l'atmosphère d'oxygène.
ε : l'oxygène fait totalement défaut.
η : apport d'oxygène par barbotage.
θ : suppression du barbotage d'oxygène.
ι : barbotage d'hydrogène.
λ : suppression de ce barbotage : atmosphère d'oxygène sans barbotage.

Il nous semble incontestable dans cette expérience que la longue soustraction de l'oxygène rend les contractions de la matrice de plus en plus faibles ; surtout qu'ici l'air ne baigne plus la surface du bain.

La matrice 5, page 7, qui faisait de belles contractions sans que l'oxygène barbote à travers le bain avant +O, tend vers la contracture, sous l'influence du passage à l'oxygène : et quand ce barbotage cesse, l'état acquis persiste assez longtemps, pour ne fléchir qu'après des minutes.

Il est possible qu'ici l'action chimique de l'oxygène est en jeu. Aussi son effet est lent et sa persistance dure longtemps après cessation du barbotage.

A comparer la brusquerie des reflexes mécaniques avec la progression lente de l'effet chimique, on s'explique facilement les deux genres de réponses.

Nous ne résumerons pas ici les constatations faites sur l'uterus de cobaye ; nous verrons d'abord des phénomènes similaires sur l'intestin de lapin.

CHAPITRE II.

Intestin de lapin.

A côté de la matrice de cobaye, l'intestin de lapin est certainement l'objet soumis le plus fréquemment aux études expérimentales *in vitro*.

Il s'agit donc de voir si les étranges phénomènes que nous avons constatés sur la matrice de cobaye vont se répéter pour l'intestin de lapin.

1° *Excitation ou inhibition* par le barbotage selon les propriétés chimiques du bain.

De loin le plus souvent ou dans les bains faits de solution de Ringer, Locke, le passage de bulles d'oxygène devient un excitant immédiat et énergique.

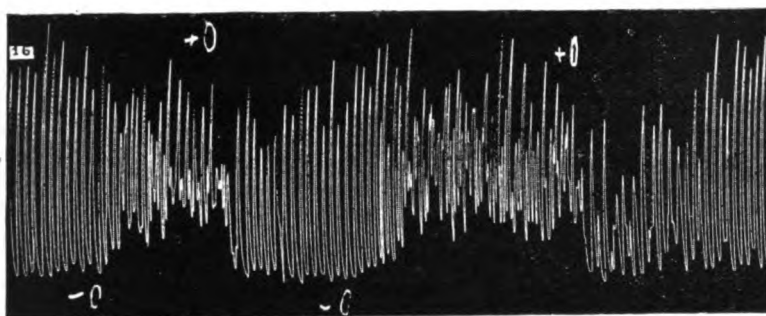
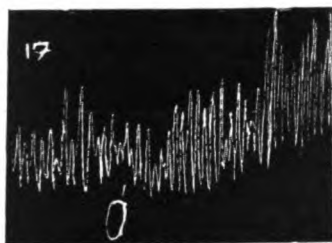
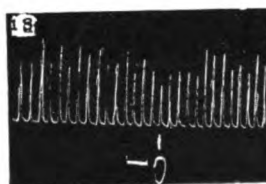
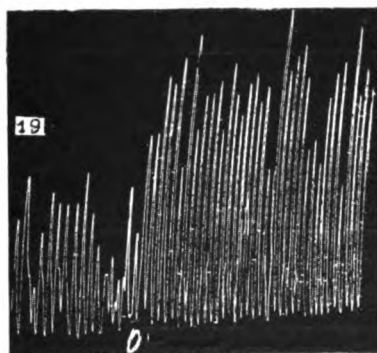
Dans l'expérience de HOSKINS et HUNTER, l'intestin du rat bondit réellement, comme certaines matrices préalablement au repos.

Et tous ceux qui ont travaillé l'intestin de lapin ont vu de faibles contractions s'amplifier notablement par l'apport de bulles d'oxygène.

L'intestin qui a livré les courbes suivantes montre en 19 l'amplification notable des Pendelbewegungen, et en 17 une accentuation simultanée de tonus.

Nos prédécesseurs au laboratoire du Pr. IDE, les Dr. D'HAENENS et WARMOES, nous ont rapporté que des intestins en fonction depuis quelque temps s'étaient souvent montrés indifférents à l'oxygène et se contractaient aussi bien sans barbotage d'oxygène qu'avec lui. Et nous savons que de pareilles constatations ont été faites ailleurs.

Le graphique 18 surprend le même intestin à un moment où la suppression du barbotage ne change guère son activité.

Mais ce qui n'a pas été constaté, que nous sachions, c'est que ce

Graphique 16.

Graphique 17.

Graphique 18.

Graphique 19.

Intestins de lapin.

Effets de l'oxygène en solutions diverses.

16. L'oxygène abaisse le tonus et améliore les contractions.

17. Il accentue le tonus.

18. Indifférence à l'oxygène.

19. L'oxygène excite la contraction seul, sans relever le tonus.

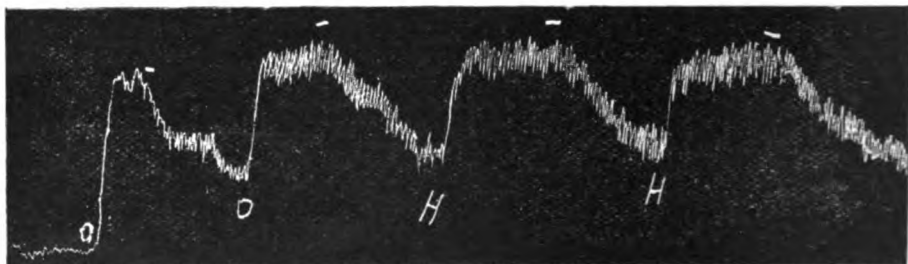
même barbotage puisse provoquer une vraie *inhibition* soit du tonus, soit des contractions.

Or en apportant des modifications à la composition du bain, nous obtenons aussi bien que chez la matrice de cobaye la diminution de l'état de contracture (du tonus) ou de la grandeur des ondulations selon les circonstances.

Le graphique 16 est livré par le même intestin : et toutes les variantes inhibitives ont été obtenues.

Nous n'entrons pas ici dans la composition du bain nutritif qui occasionne ce renversement de l'action réflexe. D'après les dispositions préalables de l'intestin cette composition varie, quoique toujours dans le même sens. Cela n'a pas d'intérêt ici. Nous provoquons ce renversement, même sans l'intervention de poisons, en modifiant plus ou moins les sels du bain. Nous nous réservons de revenir sur ce sujet dans un prochain travail.

2° Bulles d'O, bulles d'H, et agitation mécanique du bain.

L'intestin 20 nous montre que l'effet excitant des bulles d'O est si similaire à celui des bulles d'H qu'on serait tenté de croire à une

Graphique 20.

Intestin de lapin.
Excitation par les bulles de O ou de H.

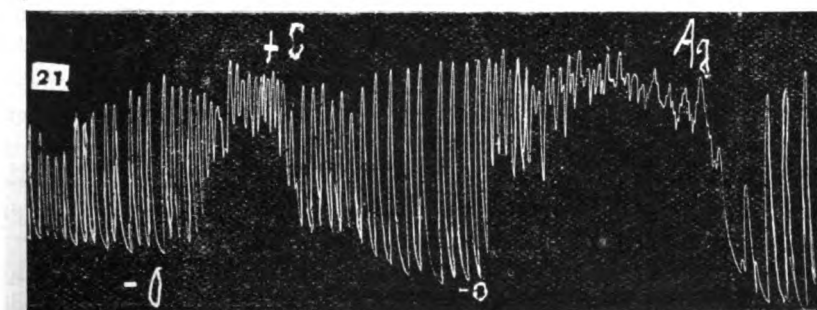
tricherie. Le bond est raide quand les bulles de gaz arrivent, et quand elles cessent d'arriver, il se fait un apaisement graduel : quand c'est l'oxygène qu'on supprime ainsi, on pourrait penser à une asphyxie graduelle du tissu. Mais la 2^e^ cessation de O et la 1^re^ de H sont si bien calquées l'une sur l'autre que pareille supposition tombe. Ce sont bien les bulles de gaz comme phénomène physique qui excitent et la cause d'excitation passée, l'intestin ne reprend que graduellement son calme antérieur.

Ici l'effet est surtout un effet de tonus, celui qu'on obtient toujours le plus facilement pour l'intestin.

La similitude des réactions de l'intestin et de la matrice va plus loin : elle est même complète.

L'intestin 21 montre (le bain est modifié) d'autres dispositions ; les bulles d'O sont inhibitives du tonus, et c'est au moment où on supprime les bulles d'oxygène en — O que le tonus se relève graduellement.

Alors l'agitation mécanique, en tapotant la surface du bain avec une baguette, provoque le même résultat que les bulles d'oxygène, c.-à-d. l'inhibition, en Ag. : inhibition brusque et même si forte que les contractions sont inhibées.

Ces expériences ont été souvent renouvelées et ces trois facteurs mécaniques, bulles d'O, bulles d'H et agitation du liquide, ont produit toujours des effets similaires, excitation ou inhibition, selon la composition du bain.

Graphique 21.

Intestin de lapin.
Inhibition par les bulles et par l'agitation.

Les changements de température ont des effets moins schématiques, et l'attouchement de l'organe provoque toujours la contraction s'il produit quelque chose.

DISCUSSION.

On voit donc que pour l'uterus de cobaye comme pour l'intestin de lapin, il existe des réflexes violents dûs aux excitations mécaniques transmises à l'organe par l'intermédiaire du bain. Nous disons *réflexes* à cause de la *brusquerie* avec laquelle les réponses éclatent. L'excitant est représenté soit par des bulles de gaz qui se succèdent dans le bain sans toucher l'organe (bulles qui sont à la température du bain, dans notre installation), soit par des chocs appliqués au bain, même l'effet de donner un petit coup à la paroi du vase obtient souvent la même réponse.

Le plus curieux c'est qu'un léger changement dans la composition du bain peut renverser toutes ces réponses, et alors l'excitant mécanique provoque une inhibition.

Toutes ces inversions du réflexe que nous réalisons, intentionnellement et artificiellement sur un intestin ou une matrice, et celà par des moyens minimes, feront paraître moins étranges les inversions quasi physiologiques qui intriguent tous les chercheurs. Nous voulons parler de ces réactions classiques de l'adrénaline ou de la *p.* oxyphényléthylamine telles qu'elles ont été resumées dans le tableau de GUNN.

RÉACTION DE LA P. OX. SUR MATRICES NON GRAVIDES		GRAVIDES
lapin, furet, chien, singe	contraction	contraction
chat	relâchement	contraction
cobaye et rat	relâchement	relâchement

Pour l'adrénaline, la place intermédiaire que le chat seul occupe ici est dévolue au chien et au chat. Comme l'adrénaline est un poison nerveux, toutes les suppositions étaient permises, mais elles étaient si extraordinaires qu'on n'osait les exprimer. Or la cause du phénomène est peut-être beaucoup plus simple.

D'autre part, ces étranges phénomènes méritent une méditation de la part des myogénistes. On sait que les muscles striés (généralement plus sensibles que les lisses) sont très *peu sensibles* aux coups et aux tiraillements mécaniques. Or ici, il s'agit de l'ébranlement le plus léger qu'on puisse s'imaginer, celui de quelques bulles qui perlent à 2 ou 3 centimètres de distance, provoquant il est vrai un courant ascendant du liquide à leur niveau. Il est bien difficile de ne pas en faire un phénomène réflexe, donc nerveux. Mais le renversement de ce reflexe pour des changements de bain qui oscillent entre la formule de LOCKE et le NaCl à 0,9 °/₀ pur, comment en rendre compte par des fonctions musculaires ? L'excitation et la contracture se comprendraient encore ; mais quand un muscle en pleines contractions est frappé de relâchement brusque et de paralysie pour un léger ébranlement, cela nous paraît dépasser les limites de la vraisemblance pour la théorie myogène.

Et cela devient encore plus troublant quand on voit un autre ébranlement plus direct, celui d'un a touchement, reproduire une contracture dans le bain qui inhibe pour l'agitation. Même pour les neurogénistes, l'inversion des réflexes sera encore difficile à interprêter ; mais il y aura toutefois beaucoup plus de souplesse pour une fonction nerveuse que pour une fonction musculaire.

Il faudra probablement étudier l'action des poisons, pour trouver le lieu de l'inversion, tout comme le point de départ de ces réflexes.

Comme point de départ, il nous semble que la surface séreuse péritonéale doit être prise en haute considération, car même *in vivo* nous

voyons l'irritation péritonéale donner lieu aux spasmes violents comme aux inhibitions complètes.

Quoiqu'il en soit, il existe un facteur trop négligé dans l'étude des organes isolés, facteur capable de provoquer les plus fortes manifestations, aussi fortes certainement que celles causées par les plus violents poisons.

N'a-t-on pas pris parfois comme effet toxique sur les muscles lisses ou sur les nerfs, des irritations superficielles sur la surface péritonéale, l'homologue de l'irritation causée par tant de solutions quand on les injecte dans le tissu cutané? Les séreuses sont encore beaucoup plus irritables que les muqueuses et que les tissus sous-cutanés, et pourtant ces derniers réagissent à presque toutes les injections locales : la digitale, la quinine, l'ergotamine, la strychnine, les salicylates sont très irritants, même les sulfates ne sont pas indifférents aux cellules.

Désormais il y aura lieu de vérifier pour chaque poison appliqué si son action n'est pas simplement superficielle, c.-à-d. de l'ordre des bulles de gaz ou des simples attouchements.

Peut-être que la physiologie réflexe des séreuses en tirera de nouvelles lumières, au moment où c'est presque un axiome en pathologie de dire que le péritoine est insensible, sauf à sa face pariétale.

Ces résultats ont donc plus qu'une valeur critique des expériences de laboratoire, ils révèlent l'existence d'une fonction défensive quasi totalement perdue de vue.

Ce sujet mérite donc d'être élucidé avant tout, pour préciser la valeur de toutes les études sur organes *in vitro*.

CONCLUSIONS.

1° L'action des bulles d'oxygène sur la *matrice isolée* de cobaye est la même que celle de bulles d'hydrogène, comme EVANS et UNDERHILL l'ont signalé.

2° Les bulles de gaz provoquent tantôt une contraction, tantôt une inhibition, comme EVANS et UNDERHILL l'ont constaté *occasionnellement*. Nous avons provoqué l'inversion de la réponse d'un même organe par de légères modifications des sels normaux du bain; la réponse ne dépend pas de l'état préalable de contracture plus ou moins accentuée.

3° L'agitation légère du liquide du bain produit le même effet que le passage des bulles de gaz, comme EVANS et UNDERHILL l'ont montré aussi ; mais toute irritation mécanique, notamment certains attouchements légers, ne produisent pas l'effet des bulles de gaz : tandis que, dans un bain donné, les bulles de gaz et l'agitation inhibent les contractions, l'attouchement provoque dans nos cas la contracture.

Et l'inverse n'a pas été constaté ici.

4° Les hausses rapides de température, dans les limites optimales entre 36° et 40°, ont souvent le même effet que les bulles de gaz. Le refroidissement brusque n'a pas toujours l'effet contraire du réchauffement : les tendances à la contracture prédominent.

5° L'intestin de lapin (contrà CLARK et GROSS) présente les mêmes réponses aux bulles de gaz et à l'agitation que la matrice de cobaye : contracture, indifférence ou relâchement. Nous avons pu ici également changer la réponse de l'organe, en modifiant un peu la composition du bain.

Toutes ces réactions sont plus brusques et parfois aussi violentes que celles qu'on est habitué de voir pour les poisons les plus efficaces.

Annexe : Exemples de modifications de bain et de leurs conséquences.

Matrice dans un bain contenant ‰. NaCl, 9 gr. $NaHCO_3$, 0,1 à 0;3 ; KCl, 0,42 ; CaCl, 0,08 (au lieu de 0,24) : le barbotage inhibe les contractions.

Alors on ajoute la quantité d'oxalate sodique correspondant à la totalité du calcium du bain : le barbotage devient excitant.

2° Matrice dans le bain suivant, pour ‰ :

NaCl, 9 g . ; $NaHCO_3$ 0,1 à 0,3 ; KCl, 0, 12 (au lieu de 0,42) $CaCl_2$, 0,08 (au lieu de 0,24) : le barbotage est excitant.

Addition d'une dose d'oxalate sodique correspondant à la moitié du calcium du bain : le barbotage reste excitant.

Addition de $MgCl_2$ correspondant à 0,06 ‰ : le barbotage est inhibant.

——

BIBLIOGRAPHIE.

ALVAREZ and MAHONEY : *American Journal of Physiology* 59, 1922.
ATHIAS : *Journal de Physiol. et de Pathol. générale*, 18, 1920.
» : *Archives intern. de Pharm. et de Thérapie*, 25, 1921.
BACHMANN et LUNDBERG : C. R. *Société de Biologie*, II, 1922.
BARRY : *Journal of Physiology*, 50, 1916.
BERCOVITZ : *American Journal of Physiology*, 60, 1922.
CLARK and GROSS : *Arch. intern. de Pharm. et Thér.* 28, 1923.
DANIELOPOLU et CARNIOL : *Journ. de Phys. et Pathol. gén.* 1923.
D'HAENENS : *Arch. intern. de Pharm. et de Thérapie*, 30, 1924.
DIXON and MARSHALL : *Journal of Physiology*, 59, 1924.
EVANS and UNDERHILL : *Journal of Physiology*, 59, 1924.
FRANÇOIS : *Arch. intern. de Pharm. et Thérapie*, 22, 1912.
GROSS and CLARK : *Journal of Physiology*, 57, 1923.
HAMMET : *American Journal of Physiology*, 60, 1922.
HOET : *Journal of Physiol.* 60, nº 3, 1925.
HOSKINS a HUNTER : *Amer. Journ. of Phys.* 1924.
KURDINOWSKY : *Archiv. für Anat. und Phys.* 1904.
LOCKE : *Archives intern. de Physiologie*, 18, 1921.
MAC CARTHY and OLMSTEAD : *Amer. Journal of Physiology*, juillet 1923.
MAGNUS : *Pflüger's Archiv.*, 102, 103, 108.
NELIS : *Le système nerveux végétatif*, Louvain, Uystpruist, 1925.
REES and WITHEHEAD : *Amer. Journ. of Phys.*, juin 1923.
RONA und NEUKIRCH : *Pflüger's Arch.*; 1912.
ROTH : *Arch. intern. de Pharmac. et Thérapie*, 27, 1923.
TEN CATE : *Archives néerlandaises de Physiol.*, 9, 1924.
WYSENBUK : *Nederl. tijds. voor geneeskunde*, 1922.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE DE L'UNIVERSITÉ DE GAND. — DIRECTEUR J. F. HEYMANS.

RECHERCHES PHARMACODYNAMIQUES SUR LES ACTIONS VASCULAIRE, VASOMOTRICE ET PUPILLAIRE DU CALCIUM ET DU POTASSIUM (*)

PAR

PAUL REGNIERS.

Introduction.

Afin de pouvoir étudier en dehors de toute influence cardiaque ou nerveuse centrale, l'action des agents pharmacodynamiques sur les vaisseaux et sur les terminaisons nerveuses vasomotrices, différentes techniques de perfusion d'organes isolés ont été préconisées tant chez la grenouille que chez les mammifères.

Chez la grenouille, quelques expérimentateurs tels ROTHLIN (1), ATZLER et LEHMANN (2), perfusent par l'aorte abdominale après avoir détruit le système nerveux central ; les autres, de beaucoup les plus nombreux, emploient la méthode de LÄWEN-TRENDELENBURG (3) perfusant uniquement les pattes postérieures.

Chez les mammifères, depuis les premières expériences de A. SCHMIDT (4) en 1867 et les perfectionnements techniques apportés par HÉGER (5) et MOSSO (6), presque tous les organes isolés ont été perfusés. Ces dernières années la perfusion de l'oreille de lapin d'après PISSEMSKI (7) fut surtout employée. Ces diverses méthodes permettent uniquement d'observer les modifications vasculaires globales.

L'étude de l'excitabilité périphérique des nerfs vasomoteurs présente de plus grandes difficultés. En effet, les troncs nerveux à fonction vasomotrice prédominante sont peu nombreux et les fibres vasomotrices se trouvent généralement mêlées aux fibres motrices des muscles striés : l'excitation de ces nerfs mixtes produit des réactions simultanées des vaisseaux et des muscles. Aussi, plusieurs auteurs, tels PEARCE (8), LAPICQUE et BOIGEY (9), ont essayé d'exclure les réactions des muscles striés en curarisant l'animal ; mais si pour les uns, tels LAPICQUE et BOIGEY, le curare serait sans action sur les nerfs vasomoteurs, pour d'autres, tel PEARCE, il paralyserait très facilement les

(*) Ce travail a été présenté en partie sous forme de communication préliminaire à la Soc. de Biologie (*C. R. Soc. Biol.* 1924, XCI, p. 905).

vasoconstricteurs ; GASKELL (10), VON FREY (11), affirment que le curare paralyse les fibres vasodilatatrices, laissant intactes les fibres vasoconstrictrices. PEARCE, en outre, signale que chez la grenouille le curare a lui-même une action vasoconstrictrice. De plus BIEDL et WIESEL (12), ainsi que BRODIE et DIXON (13), perfusant la patte de mammifères, et CARDONE (14), dans ses expériences de perfusion du rein, ont observé un antagonisme net entre le curare et l'adrénaline.

En se basant sur les différences de vitesse de dégénérescence des diverses fibres composant les nerfs périphériques, BOWDITCH et WARREN (15) entre autres, ont proposé de sectionner ces nerfs et d'attendre pour exciter les nerfs vasomoteurs, la dégénérescence complète des fibres motrices des muscles striés. Mais à ce moment les fibres vasoconstrictrices elles-mêmes semblent déjà notablement dégénérées, car, d'après plusieurs auteurs, l'excitation provoque alors de la vasodilatation, les fibres vasodilatatrices ayant résisté plus longtemps à la dégénérescence que les fibres vasoconstrictrices.

D'après HALBERTSMA (16) l'excitation des nerfs mixtes avec un courant approprié donnerait chez la grenouille avant tout des réactions vasomotrices et très peu de réactions des muscles striés.

Lorsqu'on examine les résultats expérimentaux obtenus avec ces différentes techniques, on est aussitôt frappé par leur extrême divergence. Ceci est probablement dû au fait qu'aucune des méthodes employées pour l'étude de l'excitabilité périphérique des nerfs vasomoteurs ne soustrait complètement les vaisseaux aux réactions collatérales. Aussi, en vue d'entreprendre de nouvelles études sur l'action vasculaire et principalement sur l'action de diverses substances sur l'excitabilité périphérique des nerfs vasomoteurs, avons-nous d'abord cherché à perfectionner la technique.

Technique (*)

On sait qu'il existe chez le lapin un nerf vasomoteur isolé, le nerf sympathique cervical, qui se distribue en majeure partie au territoire vasculaire de la tête. Cette disposition devait permettre de perfuser la tête du lapin, tout en conservant intact le nerf sympathique cervical.

La *figure* 1 représente dans son ensemble le dispositif expérimental ; il comprend trois parties principales :

1. — *La tête du lapin séparée du reste du corps au point de vue circulation.*

Après fixation du lapin et incision sur la ligne médiane au cou, on dénude les deux veines jugulaires externes à l'endroit où les collatérales principales se réunissent pour former les troncs uniques, et on passe sous ceux-ci des fils d'attente. Du côté choisi pour la perfusion, le sympathique est prudemment isolé, fixé par un fil, sectionné et remis en place. La carotide du même côté est libérée sur un trajet de deux à trois centimètres et on place sous elle les fils, mais sans les lier, ceci pour retarder aussi longtemps que possible l'anémie cérébrale et pour prévenir la coagulation qui se fait plus facilement dans une artère manipulée où le sang est au repos. Du côté opposé la veine jugulaire est liée et, par la carotide, on saigne l'animal.

(*) Un résumé de la technique a été publié par C. HEYMANS et P. REGNIERS *C. R. Soc. de Biologie*, T. XC, p. 89, 1924.

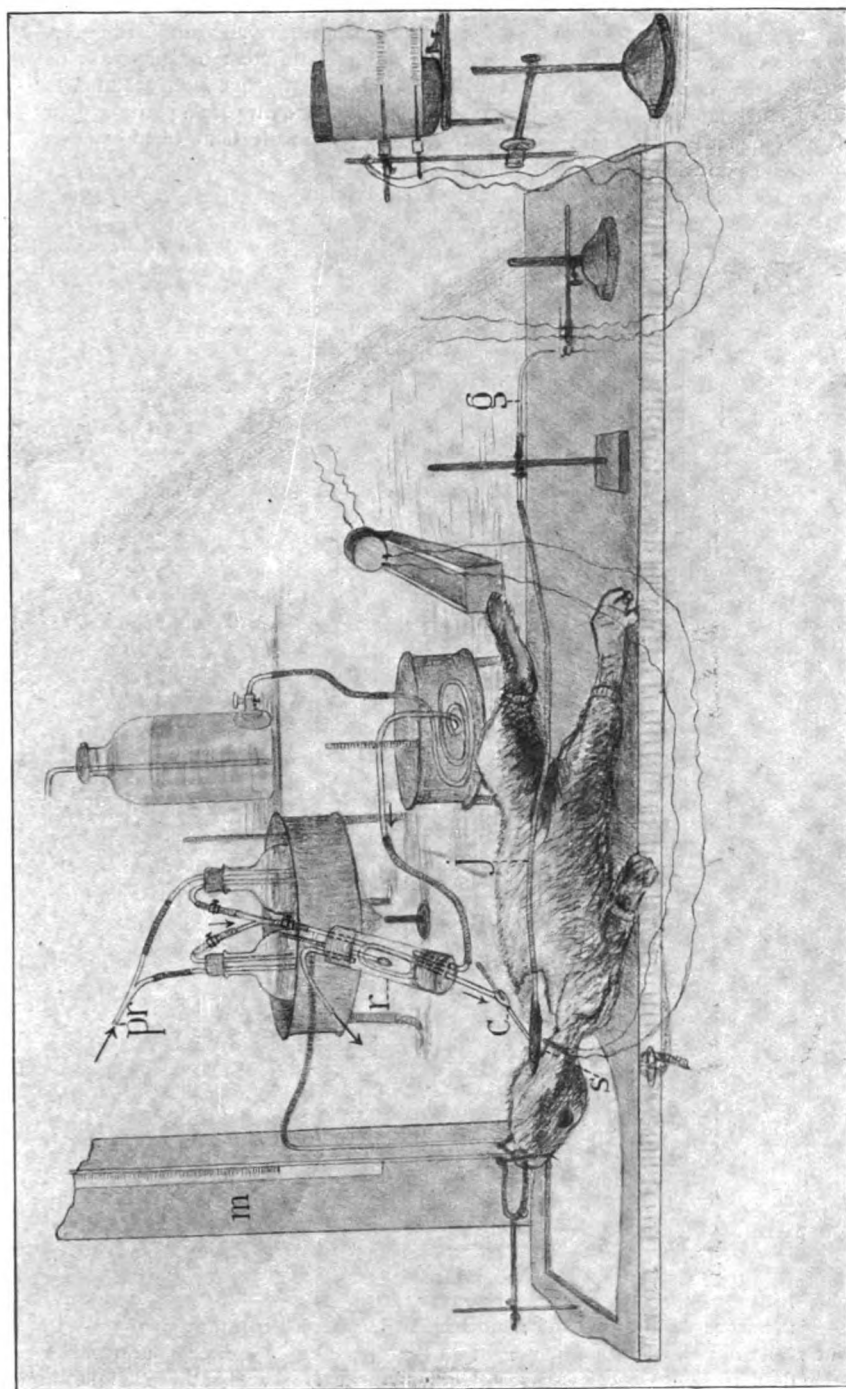



Figure 1.

Dispositif pour l'étude simultanée des actions vasculaire, vasomotrice et pupillaire. *pr* : tube pour pression ; *r* : thermorégulateur ; *c* : canule carotidienne ; *s* : nerf sympathique cervical ; *g* : compte-gouttes veineux ; *m* : manomètre à eau « carotidien » ; *j* : tube jugulaire.

On incise et on extirpe ensuite le plastron sternal pour mettre le cœur à nu et on pose une forte ligature en bloc sur la base, autour de tous les vaisseaux cardiaques. Les ligatures de la veine jugulaire, de l'artère carotide et du cœur ont pour but de limiter la perfusion exclusivement à la tête et principalement à une moitié. Enfin on place une canule dans le bout céphalique de la veine jugulaire du côté à perfuser pour permettre l'écoulement du liquide, une autre canule (c) dans le bout céphalique de la carotide. La perfusion est aussitôt installée.

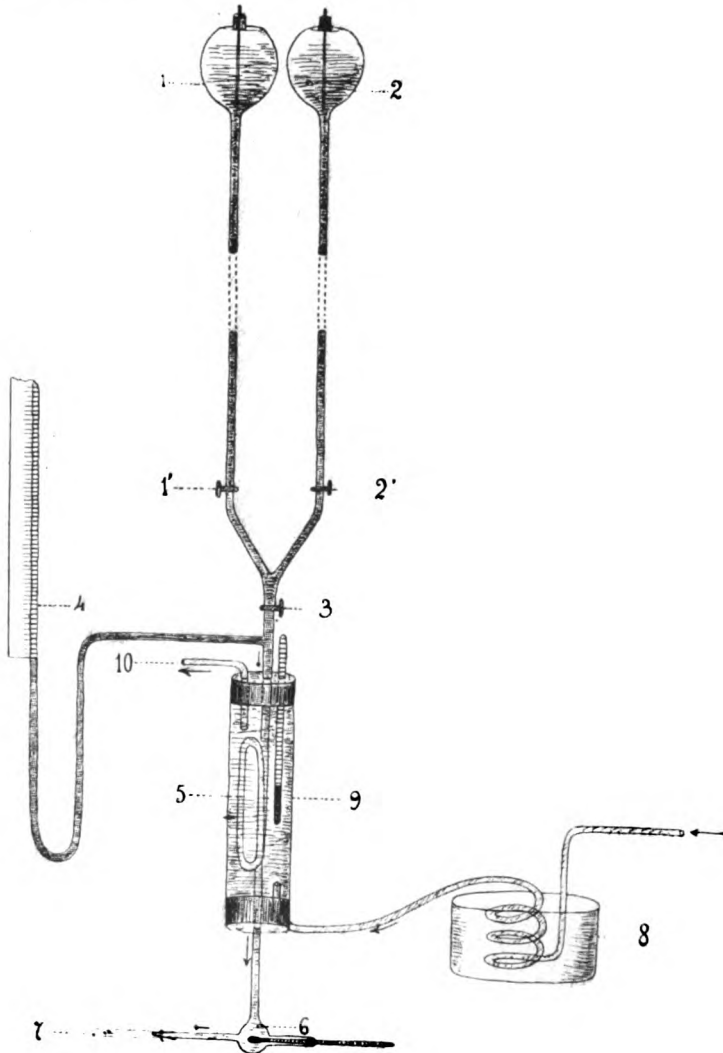



Figure 2.

1—2 : flacons de Mariotte qui maintiennent la pression constante ; 1'—2'—3 : vis pour régler la perfusion. 4 : manomètre à eau. 5 : tube en spirale pour chauffer le liquide de perfusion. 6 : canule avec thermomètre latéral. 7 : bout céphalique de l'artère carotide. 8 : bain-marie. 9 : manchon en verre dans lequel circule l'eau chaude qui s'écoule par 10 : tube d'écoulement de l'eau chaude du thermorégulateur.

2. — *Appareil à perfusion.*

Celui-ci est analogue à ceux préconisés pour la perfusion d'organes isolés. Il comprend:
a) des récipients à pression constante contenant le liquide de perfusion ;
b) un thermostat qui maintient ce liquide à une température constante.
La pression est donnée par un flacon de Mariotte dont l'eau s'écoule goutte à goutte et tombe dans un ballon renfermant de l'oxygène ; ce ballon est lui-même relié par le tube (pr) aux récipients qui contiennent le liquide de perfusior.

Ce dispositif de pression fut employé dans une série d'expériences, mais il fut ultérieurement simplifié en remplaçant le dispositif de pression à oxygène par des flacons de Mariotte renfermant les liquides de perfusion (*figure* 2). Cette disposition permet une plus grande stabilité dans la pression :
c) un tube en spirale, avec manchon (r) où circule en quantité réglable de l'eau chaude. On prévient de la sorte les oscillations thermiques dues aux variations de la vitesse d'écoulement du liquide à travers la tête perfusée. Le tube spirale amenant le liquide de perfusion se termine par la canule (c) à thermomètre latéral.

3. — *Deux appareils enregistreurs.*

Le premier est constitué par un manomètre à eau (m) greffé latéralement sur le tube carotidien. Il permet d'observer et d'enregistrer toute modification artérielle dans la tête perfusée.
Le second enregistreur est un compte-gouttes électrique.
Toute vasodilatation ou vasoconstriction peut être ainsi mesurée à la fois par le manomètre à eau et par l'écoulement jugulaire. A ce sujet faisons remarquer que les indications données par le débit veineux enregistré au compte-gouttes, méthode généralement employée pour déterminer l'action vasculaire d'une substance, ne sont pas toujours concordantes avec celles du manomètre à eau. Dans certaines conditions, une accélération primaire de l'écoulement veineux suivie d'un ralentissement secondaire peut faire supposer une vasodilatation artérielle primaire suivie de vasoconstriction secondaire : en réalité, comme l'indique le manomètre, l'accélération primaire de l'écoulement est due à une vasoconstriction artérielle immédiate et primaire qui chasse le liquide dans le réseau veineux et augmente de la sorte passagèrement le débit veineux. En résumé le manomètre à eau, très sensible et très fidèle, traduit mieux tout changement du tonus vasculaire artériel ; c'est pourquoi nous avons eu principalement recours à lui pendant nos expériences.

Liquide de perfusion.

Les expériences faites avec du Ringer pur nous ont donné de mauvais résultats : l'œdème s'installe rapidement et les capillaires ne réagissent plus ni à l'adrénaline, ni à l'excitation du nerf sympathique. Ce liquide, en effet, ne contient que peu d'oxygène et est insuffisamment visqueux. Comme vecteurs d'oxygène, nous avons choisi les globules du lapin qu'on peut diluer d'ailleurs quatre à cinq fois et même plus encore dans du Ringer.

La solution de Ringer est préparée selon la formule suivante :

NaCl	0,9	gr.
$NaHCO_3$	0,05	»
$CaCl_2$.	0,024	»
KCl	0,042	»
$MgCl_2$.	0,0005	»
Dextrose	0,05	»
Eau Distillée	100 cm³	

Avant chaque expérience le Ph est vérifié colorimétriquement et fixé à 7,4. La température moyenne réalisée dans le thermomètre latéral carotidien est de 39°.

Avec cette technique l'appareil vasculaire et vasomoteur de la tête reste sensible pendant une heure en moyenne, parfois plus longtemps.

Les avantages de cette méthode chez le lapin nous paraissent être entre autres : la rapidité avec laquelle on peut remplacer la circulation naturelle par la circulation artificielle ; la richesse de vascularisation de la région perfusée et comme conséquence sa sensibilité aux agents pharmacodynamiques à action vasculaire ; la sensibilité du manomètre à eau qui accuse immédiatement les réactions vasculaires les plus minimes. Enfin la conservation de l'excitabilité vasomotrice et pupillaire du sympathique cervical permet de déterminer la variation de cette excitabilité sous l'influence de modifications dans le liquide de perfusion ou à la suite d'injection de substances pharmacodynamiques.

Pour contrôler les résultats obtenus sur la tête perfusée du lapin, quant à l'action vasculaire des différentes substances étudiées, nous avons étendu nos expériences à la tête du chat et du chien. Chez ce dernier, le tronc vagosympathique est fusionné au cou ; il n'y a pas moyen d'étudier ainsi la sensibilité vasomotrice du sympathique cervical. Nous avons essayé sur la tête du chien perfusée l'excitation de la corde du tympan, mais les modifications vasculaires sont trop minimes pour provoquer une variation notable de la pression dans la perfusion de la tête en totalité. Quant au chat l'excitation du sympathique cervical n'a que très peu d'effet sur la pression de perfusion de la tête.

Nous avons étendu nos expériences en perfusant le train postérieur du lapin, du chien et du chat. Voici la technique employée. Après avoir saigné l'animal, on ouvre la cavité abdominale, on récline les intestins et on isole l'aorte abdominale et la veine cave qu'on libère et sous lesquelles on place des fils à deux centimètres au-dessus de la bifurcation iliaque. Pour empêcher toute fuite de liquide, on place la chaîne d'un écraseur de Chassaignac autour du corps au niveau de la région lombaire : on comprime ainsi tous les vaisseaux sur la colonne vertébrale. Le territoire de perfusion se trouvant ainsi délimité, on ouvre la veine cave pour permettre l'écoulement du liquide et on introduit ensuite la canule à perfusion dans l'aorte abdominale. Le dispositif de perfusion est celui indiqué par la *figure* 2.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Calcium.

A. — Action vasculaire.

Un des premiers, H. Thomson (17), examina l'action vasculaire du calcium : il attribue au calcium une action vasodilatatrice sur le rein et la rate de bœuf et de mouton et sur les vaisseaux de la grenouille. Ces résultats furent confirmés par Rutkewitsch (19) pour le rein du chien. D'après Solmann (18), l'excès de calcium correspond à une excitation parasympathique des vaisseaux qui répondent par la dilatation. Le manque de calcium agit comme un stimulant sympathique des vaisseaux : ceux-ci se contractent. Gunzburg (20), dans ses études sur la pathogénie de l'œdème, signale que la suppression du calcium dans le liquide de perfusion de la grenouille produit de la

vasodilatation. SCHMIDT (21), dans ses expériences très complètes qui portèrent sur les pattes de mammifères et sur la grenouille perfusée par la méthode de LÄWEN-TRENDELENBURG, obtient toujours de la vasodilatation, soit par injection de chlorure de calcium, soit en augmentant la teneur en chlorure de calcium du liquide de perfusion. De même TESCHENDORFF (22) trouve que l'injection de chlorure de calcium augmente la vitesse d'écoulement du liquide de perfusion chez la grenouille.

Par contre, HOOKER (23), ALDAY-REDONNET (24) et HAMBURGER (25), dans leurs expériences sur la grenouille, obtinrent une vasoconstriction par augmentation de la teneur en calcium du Ringer : d'après HAMBURGER, cette vasoconstriction peut aller jusqu'à empêcher tout passage de liquide et ce spasme est vaincu par addition de potassium. NOYONS (26) perfusant les pattes postérieures du lapin, considère le calcium comme un vasoconstricteur. WEHLAND (27) observe une légère vasoconstriction chez la grenouille quand il perfuse avec un liquide sans calcium. Enfin dans un travail récent, L. BRULL (28) conclut que chez le chien et le lapin l'injection intraveineuse de calcium produit une vasoconstriction d'origine périphérique, étendue aussi bien au domaine des pattes qu'au domaine splanchnique (rein et rate).

L'action vasculaire périphérique du calcium est certes fort controversée ; il n'était donc pas superflu de reprendre cette étude, surtout au moment où différents auteurs attribuent au calcium une action sympathicomimétique générale. Nos expériences portèrent en majeure partie sur la tête du lapin, quelques-unes sur le train postérieur du lapin et sur la tête et le train postérieur du chat et du chien.

1. — Excès de Calcium.

a) *Injection de $CaCl_2$ à 1 °/o (Ph = 7,4) dans le tube de perfusion.*

Comme exemples de l'action vasculaire du $CaCl_2$, nous donnons les résultats suivants obtenus dans la perfusion de la tête de lapin 16, 18, 19, 25 et 27. Enregistrement au compte-gouttes électrique. Liquide de perfusion : 150 cm³ sang lapin + 150 cm³ Ringer.

Lapin	Injection de $CaCl_2$ à 1 °/o	Nombre de gouttes		Variations
		Avant	Après	
N° 16	1 cm³	88	118	+34 °/o
» 18	1 »	96	127	+32 °/o
» 25	1 »	56	78	+39 °/o
» 27	1 »	57	80	+40 °/o
» 19	0,5 »	60	69	+14 °/o

Ces résultats démontrent que le $CaCl_2$ a une action dilatatrice sur les vaisseaux de la tête de lapin. Pour nous assurer que l'action du $CaCl_2$

est bien due à l'ion Ca·· et non à l'ion Cl' nous avons injecté un autre sel de calcium : le nitrate de calcium.

Lapin 71 et 74. Perfusion de la tête ; pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 75 cm³ sang de lapin + 250 cm³ Ringer.

Lapin	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
		avant	après	
N° 71	1 cm³ nitrate de Ca à 1 %	80	75	— 5
» 74	1 » » » »	70	63	— 7

Le nitrate de calcium est donc également vasodilatateur.

L'injection de $CaCl_2$ dans l'arrière-train perfusé du lapin, du chien et du chat conduit aux mêmes résultats :

Lapin 60 et 67. Perfusion arrière-train. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 75 cm³ sang lapin + 325 cm³ Ringer.

Lapin	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
		avant	après	
N° 66	1 cm³ $CaCl_2$ 1 %	66	60	— 6
» 67	1 » » 1 %	83	80	— 3

Chien 4. Perfusion train postérieur. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 150 cm³ sang de chien. + 350 cm³ Ringer.

Injection	Cm. manomètre eau		Variations
	avant	après	
2 cm³ $CaCl_2$ à 1 %	62	52	—10
» » » »	90	80	—10

Chat 10. Perfusion train postérieur. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 100 cm³ sang + 300 cm³ Ringer.

Injection	Cm. manomètre eau		Variations
	avant	après	
1 cm³ $CaCl_2$ 1 %	96	95	— 1
2 » » 1 %	96	94	— 2

Dans la perfusion du train postérieur de lapin et de chien, l'injection de $CaCl_2$ dilate les vaisseaux. Dans la perfusion du train postérieur

du chat, contrairement aux résultats de SCHMIDT, l'injection de 2 ctgr. de $CaCl_2$ n'a produit aucune modification vasculaire appréciable.

b) *Perfusion avec du Ringer contenant un excès de calcium.*

Lapin 46 et 64. Perfusion de la tête. Pression au manomètre à eau. Liquide I : 50 cm³ sang lapin + 150 cm³ Ringer normal. Liquide II : 50 cm³ sang lapin + 150 cm³ Ringer contenant le *double* de la dose normale de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Cm. manomètre eau	Variations
Lapin 46			
16 h. 38'30"	Liquide I	42	
38'52"	» II	42	
41' 6"		36	
41'30"		34	— 8
Lapiu 64			
16 h. 45' 5"	» I	88	
45'35"	» II	88	
48'20"		77	—11

La perfusion avec du Ringer contenant le double de la dose normale de calcium provoque une vasodilatation légère mais persistante.

Lapin 32. Perfusion de la tête. Pression au manomêtre à eau. Liquide I : 60 cm³ sang lapin + 80 cm³ Ringer normal : Liquide II : 60 cm³ sang lapin + 80 cm³ Ringer à dose *décuple* de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Cm. manomètre eau	Variations
16 h. 32'40"	Liquide I	60	
35'	» II	60	
36'42"		46	
37' 5"		38	—22

La perfusion de la tête du lapin avec du Ringer contenant des doses 2 et 10 fois plus fortes que la dose normale de $CaCl_2$ détermine une vasodilatation dont l'intensité est en rapport avec la quantité de $CaCl_2$. Cette action vasodilatatrice est réversible, toutefois elle ne l'est plus lorsque la perfusion avec le liquide contenant un fort excès de calcium a duré environ un quart d'heure.

2. — Suppression ou diminution de Calcium.

On admet que le citrate de sodium fixe le calcium actif. Comme le mélange de sang au Ringer s'est montré indispensable pour la bonne

survie des vaisseaux de la tête du lapin, nous nous sommes servi du citrate pour diminuer ou supprimer le calcium du sang. Nous avons employé la solution isotonique de citrate à 3,8 °/o dont nous ajoutons des quantités variables au mélange de sang défibriné et de Ringer sans calcium.

Voici quelques-unes de nos expériences.

Lapin 53. Perfusion de la tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer normal. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer sans calcium + 2,2 cm³ citrate de Na à 3,8 °/o.

Temps	Liquide de perfusion	Cm. manomètre eau	Variations
16 h. 38′	Liquide I	54	
38′30″	II	54	
40′45″		57	
42′40″		59	+5
58′51″	» I	61	
17 h. 4′50″		56	—5

La diminution du calcium dans le liquide de perfusion a comme conséquence une légère vasoconstriction. Celle-si se maintient pendant toute la perfusion avec le Ringer contenant le citrate et disparaît par retour au Ringer normal.

Lapin 49. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide I : 65 cm³ sang lapin + 120 cm³ Ringer. Liquide II : 65 cm³ sang + 120 cm³ Ringer sans calcium + 20 cm³ citrate de Na à 3,8 °/o.

Temps	Liquide de perfusion	Cm. manomètre eau	Variations
16 h. 30′	Liquide I	35	
30′15″	» II	35	
33′10″		50	
34′10″		60	
35′ 8″		70	
37′15″		79,6	+44,6
17 h. 6′42″	Inj. de 0,2 cm³ sol. $CaCl_2$ à 1 %	77	
8′50″		70	—7
9′40″	Inj. de 0,2 cm³ sol. $CaCl_2$ à 1 %	70	
14′50″		42	—28

La suppression de calcium dans le liquide de perfusion avec un excès de citrate provoque une vasoconstriction très rapide et durable qui disparaît par injection de $CaCl_2$.

B. — Influence du calcium sur l'excitabilité du nerf sympathique cervical.

Ce sont surtout les premières expériences de LOEB (29), HOWELL et DUKE (30) qui ont attiré l'attention sur le fait que l'excitabilité nerveuse et musculaire peut être modifiée par des changements dans la concentration ionique du milieu humoral.

CHIARI et FRÖHLICH (31), après injection d'oxalate de soude, trouvent que l'excitabilité des fibres vasodilatatrices de la corde du tympan du chat n'a pas varié ; l'injection de $CaCl_2$ ne la modifie pas davantage. LOEWI (32), préparant le chat au moyen d'injection de petites doses d'oxalate de soude, voit augmenter l'excitabilité de ces mêmes fibres vasodilatatrices tandis que les doses massives les paralysent ; l'injection ultérieure de $CaCl_2$ n'influence point ces actions. PEARCE (8), perfusant la grenouille d'après la méthode de LÄWEN-TRENDELENBURG, fait alterner le Tyrode avec une solution de NaCl ; celle-ci supprime la sensibilité des vasomoteurs et PEARCE conclut que cette action est due à l'absence de calcium. SCHMIDT (21) excite le plexus lombaire sympathique de la grenouille : l'injection de $CaCl_2$ ou l'augmentation du calcium dans le liquide de perfusion diminue l'excitabilité des fibres vasoconstrictrices. Cette parésie des constricteurs disparaît lorsqu'on retourne au Ringer normal. La suppression du calcium dans le liquide de perfusion augmenterait par contre l'excitabilité des nerfs vasomoteurs.

Nous nous sommes adressé au nerf sympathique cervical du lapin pour étudier l'influence de l'ion $Ca^{\cdot\cdot}$ sur l'excitabilité vasomotrice périphérique.

1° — Influence de l'excès de calcium sur l'excitabilité vaso-motrice du nerf sympathique cervical.

a. — *Injection de $CaCl_2$ à 1 % dans le tube de perfusion.*

Lapin 25. Perfusion de la tête. Enregistrement au compte-gouttes. Liquide de perfusion : 150 cm^3 sang + 150 cm^3 Ringer.

Temps	Injection	Excitation		Nombre gouttes		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
15 h. 50′		Chariot 10	30″	64	42	—34 %
54′	1 ctgr. $CaCl_2$			56	78	+39 %
55′		» 10	30″	78	46	—40 %

Lapin 27. Perfusion tête. Enregistrement compte-gouttes. Liquide de perfusion : 150 cm³ sang + 150 cm³ Ringer.

Temps	Injection	Excitation		Nombre gouttes		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
11 h. 9'		Chariot 10	50"	74	54	—27%
12'	1 ctgr. $CaCl_2$			57	80	+40%
14'		» 10	50"	80	56	—30%

Ces expériences montrent que l'injection de 1 ctgr. de $CaCl_2$ n'a pas d'influence notable sur l'excitabilité du sympathique cervical.

b. — *Perfusion avec un liquide contenant un excès de calcium.*

Lapin 64. Perfusion tête. Pression au manomètre. Ringer I : 50 cm³ sang + 150 cm³ Ringer ; Ringer II : 50 cm³ sang + 150 cm³ Ringer contenant une dose ***double*** de calcium,

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm. manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 39'12"	Liquide I	Chariot 9	5"	88	107	+19
16 h. 45'35"	» II					
52'15"		» 9	5"	72	88,5	+16,5
54'30"	» I					
17 h. 2'		» 9	5"	93	99	+ 6
18'		» 9	5"	89	95	+ 6

Lorsqu'on double la dose de calcium dans le liquide de perfusion, l'excitabilité du sympathique cervical diminue rapidement et le retour à la solution normale de Ringer ne fait pas disparaître cette parésie.

Lapin 43. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer normal. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer contenant 7 fois la dose normale de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm. manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 41'40"	Liquide I	Chariot 24	5"	42	59	+17
47'25"	II					
51'32"		» 14	5"	40	46,4	+6,4
58'40"		» 24	5"	40	51	+11
17 h. 10'55"		» 24	5"	48,4	46,4	+6

Une dose de calcium 7 fois plus forte que la dose normale diminue notablement l'excitabilité vasomotrice sympathique .

Lapin 32. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 60 cm³ sang + 80 cm³ Ringer. Liquide II : 60 cm³ sang + 80 cm³ Ringer contenant 10 fois la dose normale de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm. manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 29′	Liquide I	Chariot 6	15″	53	66,4	+13,4
36′42″	» II					
39′		» 6	15″	54	54	0
45′25″		» 6	15″	42	42	0

Une dose décuple de calcium dans le liquide de perfusion abolit donc totalement l'excitabilité du sympathique cervical.

2° — Suppression ou diminution du calcium.

a) *Suppression du calcium.* .

Lapin 49. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 65 cm³ sang + 120 cm³ Ringer normal. Liquide II : 65 cm³ sang + 120 cm³ Ringer sans calcium + 20 cm³ solution citrate de Na à 3,8 °/°.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm. manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 29′35″	Liquide I	Chariot 21	10″	38	42	+4
30′15″	» II					
42′45″		» 21	10″	96	96	0
17 h. 25′49″	» I					
29′40″	Inj. 0,6 ctgr. $CaCl_2$					
33′56″		» 21	15″	51	53,2	+2,2

La suppression du calcium entraîne l'abolition de toute sensibilité du sympathique ; les vaisseaux ne se trouvent cependant pas au maximum de constriction : l'injection d'adrénaline peut les contracter encore davantage. Le retour au Ringer normal, ou l'injection de $CaCl_2$, fait réapparaître l'excitabilité du sympathique cervical.

b) *Diminution du calcium.*

Lapin 52. Perfusion tête. Pression au manomètre Liquide I : 45 cm³ sang + 105 cm³ Ringer normal. Liquide II : 45 cm³

sang + 105 cm³ Ringer sans calcium + 2 cm³ solution de citrate de Na à 3,8 o/o.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm. manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 37′25″	Liquide I	Chariot 22	10″	72	73	+1
47′40″	» II					
53′ 5″		» 22	10″	74	78,2	+4,2

Lapin 53. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer normal. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer sans Ca + 2,2 Cm³ citrate de Na à 3,8 °/o.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm. manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 22′ 9″	Liquide I	Chariot 22	5″	51	55	+4
37′10″		» 22	10″	55	59	+4
38′30″	» II					
42′55″		» 22	10″	59	66	+7
52′ 9″		» 22	10″	60	64	+4

La diminution de calcium cause une légère augmentation passagère de l'excitabilité du sympathique.

Ces résultats confirment ceux de Schmidt, avec cette différence-ci toutefois que d'après lui la suppression totale du calcium augmente la sensibilité des nerfs vasomoteurs. Il est vrai que notre liquide de perfusion contient du citrate, et que nous ne pouvons pas rejeter à priori une action propre dépressive du citrate sur les terminaisons nerveuses.

C. — Le calcium dans ses rapports avec l'adrénaline.

L'action de l'ion calcium dans ses rapports avec l'adrénaline a déjà fait l'objet de nombreuses recherches. Celles-ci portèrent surtout sur le système circulatoire. (1) Burridge (38) étudiant l'action des ions sur le cœur de grenouille décrit une action paradoxale de l'adrénaline : lorsqu'il supprime complètement le calcium du liquide de perfusion, l'adrénaline arrête le cœur en diastole. Kolm et Pick (39) confirment qu'en l'absence de calcium l'adrénaline arrête le cœur

(1) Mentionnons rapidement les expériences de Sugimoto (33), Turolt (34) sur l'utérus, Langley (35), Meltzer (36), Chiari u. Fröhlich (31), Auer et Meltzer (37) sur la mydriase adrénalinique et le calcium.

en diastole; ils trouvent d'autre part que, à des doses sans effet propre, le calcium met le cœur en hypersensibilité vis-à-vis de l'adrénaline. KRAUS (40) obtient les mêmes résultats sur le cœur de lapin *in vivo* : après avoir enrichi le milieu interne en calcium, l'injection intraveineuse d'adrénaline peut produire l'arrêt du cœur en systole. LIBBRECHT (41) observe que lorsque l'on supprime le calcium du liquide de perfusion l'adrénaline est sans action sur le cœur ; l'augmentation de calcium, en de fortes proportions, a par elle-même une action si intense sur le muscle cardiaque que l'adrénaline n'y peut presque plus rien ajouter.

L'action vaso-constrictive de l'adrénaline est-elle également influencée par les variations de la teneur en calcium du liquide de perfusion ?

En 1912 O'CONNOR (42) signale que la perfusion de la grenouille avec du Ringer contenant du citrate de Na sensibilise les vaisseaux à l'action de l'adrénaline ; TRENDELENBURG (43) confirme le fait. PEARCE (8) par contre conclut que le manque de calcium dans le liquide de perfusion non seulement abolit, mais encore invertit l'action de l'adrénaline qui agit ensuite comme vasodilatateur. Mais BACKMANN (44) a démontré que la vasodilatation obtenue dans ces conditions par l'injection d'adrénaline est due en réalité non à celle-ci mais au chlorétone qu'on ajoute généralement à la solution commerciale d'adrénaline. Récemment encore G. MEDICI (45) a montré que seule la perfusion avec une solution de NaCl peut abolir l'action vaso-constrictrice de l'adrénaline et que la suppression du calcium du liquide de Ringer ne peut que diminuer cette action. L'action nocive de la solution de NaCl sur la sensibilité des vaisseaux à l'adrénaline avait d'ailleurs déjà été mise en lumière antérieurement par HATCHER (46) et récemment elle fut encore retrouvée par ZUCKERSTEIN (47) et Del CAMPO (48). WEHLAND (27) confirme les conclusions de PEARCE ; perfusant la grenouille avec le liquide de Göthlin, il constate qu'en supprimant le $CaCl_2$ de ce liquide, il invertit l'action vasculaire de l'adrénaline. ALDAY-REDONNET (24) trouve que l'excès de calcium sensibilise les vaisseaux à l'action de l'adrénaline. Pour SCHMIDT, (21) l'action vasoconstrictrice de l'adrénaline est diminuée par un excès de calcium et augmentée par sa suppression. Telle est aussi la conclusion de COW (49) qui emploie la méthode des artères isolées ; lorsqu'il ajoute de l'adrénaline à la solution de Ringer sans calcium, il observe que la réaction est plus marquée que lorsqu'il ajoute la même quantité d'adrénaline à une solution contenant un excès de calcium. Enfin, NOYONS (26) dans la perfusion des extrémités postérieures de lapin, voit que l'excès de calcium diminue l'effet vasoconstricteur de l'adrénaline ajoutée au liquide de perfusion ; il signale en outre que chez l'animal *in vivo*, après que le milieu interne a été enrichi en calcium par injection intraveineuse de $CaCl_2$ l'adrénaline n'a plus le moindre effet sur la pression sanguine.

Voyons quelle fut dans nos conditions expérimentales l'influence du calcium sur l'action vasculaire de l'adrénaline.

1° — Excès de Calcium.

Comme exemple de l'influence que peut avoir une injection de $CaCl_2$ sur l'effet vasoconstricteur de l'adrénaline, nous donnons l'expérience suivante.

Lapin 19. Perfusion tête. Enregistrement au compte-gouttes. Liquide de perfusion : 150 cm³ sang + 150 cm³ Ringer.

Temps	Injection	Nombre de gouttes avant	Nombre de gouttes après	Variations
10 h. 57'	1:100 mgr. adrénaline	66	46	—30%
11 h. 3'	0,5 ctgr. $CaCl_2$			
10'	1:100 mgr. adrénaline	62	46	—25%
13'	1 ctgr. $CaCl_2$			
22'	1:100 mgr. adrénaline	62	47	—24%

L'injection de 0,5 à 1 ctgr. $CaCl_2$ dans la tête perfusée de lapin diminue légèrement la sensibilité vasculaire à l'adrénaline.

Nous avons examiné ensuite l'influence d'une augmentation de calcium dans le liquide de perfusion.

Lapin 45. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer contenant une quantité *double* de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre à eau avant	Cm. manomètre à eau après	Variations
16 h. 35' 28"	Liquide I	1 : 1000 mgr. adrénaline	42	64	+ 22
38' 45"	» II				pression tombe et est ramenée.
48' 11"		1 : 1000 mgr. adrénaline	43,6	56,2	+ 12,6
59' 8"		idem.	44	58	+ 14
17 h. 9' 52"		idem.	44	58	+ 14
23' 52"		idem.	44,4	58,5	+ 14,1

La perfusion avec du Ringer contenant la dose de calcium double de la normale diminue nettement la réaction vasculaire à l'adrénaline.

Cette diminution est cependant moins accusée que la diminution de l'excitabilité du nerf sympathique.

Lapin 63. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer contenant 5 fois la quantité normale de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre à eau		Variations
			avant	après	
16 h. 19′ 50″	Liquide I	1 : 10.000 mgr. adrénaline	49	55,5	+ 6,5
53′	» II				
58′ 25″		idem.	35,2	36,4	+ 1,2

Lapin 41. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer contenant 10 fois la dose normale de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre à eau		Variations
			avant	après	
16 h. 42′ 1″	Liquide I	1 : 2.000 mgr. adrénaline	44	53	+ 9
44′ 15″	» II				
48′ 23″		idem.	35	39,4	+ 4,4
17 h. 2′ 15″		1 : 20 mgr. adrénaline	52,4	58	+ 25,6

La perfusion avec le Ringer contenant 5, 10 fois la dose normale de calcium diminue notablement la vasoconstriction par l'adrénaline ; il faut des doses très fortes d'adrénaline pour obtenir une vasoconstriction.

La question se pose : le calcium en excès qui diminue ou supprime la réaction vasculaire à l'excitation sympathique et à l'injection d'adrénaline, agit-il sur les terminaisons vasomotrices ou sur l'élément contractile des vaisseaux ? Nous avons essayé d'y répondre en examinant l'influence de l'excès de calcium sur l'action vasculaire de la pituitrine. En effet, on admet généralement que cette substance contracte les vaisseaux par action directe sur la fibre musculaire. Voici une expérience à ce sujet :

Lapin 78. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide

I : 50 cm³ sang + 150 cm³ Ringer. Liquide II : 50 cm³ sang + 150 cm³ Ringer contenant 10 fois la dose normale de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Excitation		Cm. manom. à eau		Variations
			Intensité	Durée	avant	après	
17 h. 3'30"	Liquide I		Chariot 22	5"	80	104	+ 24
6'30"		1:10.000 mgr. adrénaline			85	95	+ 10
9'10"	Liquide II						
20'			Chariot 22	5"	68	70	+ 2
20'40"		1:10.000 mgr. adrénaline			70	74	+ 4
25'		1:10 cm³ pituitrine			68	99	+ 31

Dans cette expérience nous voyons que la vasoconstriction causée par l'excitation sympathique et l'injection d'adrénaline diminue fortement lorsqu'on augmente la quantité de calcium dans le liquide de perfusion. Au contraire la vasoconstriction causée par l'injection de pituitrine au cours de la perfusion avec le liquide II est semblable à celle obtenue par injection de la même quantité de pituitrine dans d'autres expériences au cours d'une perfusion normale. L'action paralysante du calcium en excès semble donc se porter sur les terminaisons vasomotrices plutôt que sur la fibre musculaire lisse des vaisseaux.

2° — Suppression ou diminution du Calcium.

Lapin 51. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 35 cm³ sang + 265 cm³ Ringer. Liquide II : 35 cm³ sang + 265 cm³ Ringer sans calcium + 2 cm³ citrate de Na à 3,8 °/°.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre à eau		Variations
			avant	après	
16 h. 6' 12"	Liquide I	1 : 1.000 mgr. adrénaline	51,2	58	+ 6,8
13' 30"	» II				
29' 38"		idem.	61,6	89	+ 27.4
38' 20"	» I				
52' 10"		idem.	57	65	+ 8
59' 33"	» II				
17 h. 13' 8"		idem.	55	64,4	+ 9.4
24'		idem.	60	73	+ 13

La diminution du calcium a donc produit une hypersensibilité vasculaire envers l'adrénaline ; elle disparaît par retour à la solution normale. Remarquons toutefois que cette hypersensibilité vasculaire à l'adrénaline par diminution du calcium ne fut que l'exception ; la majeure partie des expériences donna plutôt une diminution de la sensibilité à l'adrénaline.

Voici un exemple :

Lapin 50. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 150 cm³ Ringer. Liquide II : 50 cm³ sang + 150 cm³ Ringer sans calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre à eau		Variations
			avant	après	
16 h. 35′ 44″	Liquide I	1 : 2.000 mgr. adrénaline	38	48,7	+ 10,7
46′ 40″	» II				
17 h. 6′ 15″		idem.	38,4	41,9	+ 3,5
26′ 50″		idem.	38,4	40,8	+ 2,4
30′ 5″	» I				
41′ 15″		idem.	38	44,4	+ 6,4

Des résultats des expériences lapin 50 et 51 et de plusieurs autres non reproduites, il suit que la diminution de calcium peut augmenter l'excitabilité vasculaire à l'adrénaline, mais la diminue ensuite et que dans certains cas cette action est réversible.

La suppression du calcium par addition de citrate au Ringer mélangé au sang diminue de même fortement l'action vasoconstrictrice de l'adrénaline, mais la suppression totale du calcium entraîne cependant déjà par elle-même une vasoconstriction intense.

D. — Action pupillaire du Calcium.

Nous ne connaissons que Auer et Meltzer (37) qui aient étudié l'action d'un excès de calcium sur la pupille du lapin. D'après ces auteurs l'injection lente de $CaCl_2$ provoque de la contraction pupillaire et une insensibilité pupillaire à l'excitation du nerf sympathique ; il faut des heures pour que la pupille revienne à son état normal. Schrank (50) a observé que dans un liquide contenant de l'adrénaline et un excès de $CaCl_2$ la dilatation de l'œil excisé de grenouille est retardée. Chiari et Fröhlich (31) suppriment le calcium par injection de fortes quantités d'oxalate; malgré cette

suppression il n'y a aucun changement dans l'excitabilité pupillaire du nerf sympathique.

Dans nos expériences faites sur la tête perfusée du lapin l'injection d'une petite quantité (1 ctgr.) de $CaCl_2$ reste sans effet marqué sur la pupille ; il faut augmenter la teneur en calcium du liquide de perfusion pour obtenir quelque action. Si on double la quantité de calcium dans le Ringer, on n'observe guère d'effet sur l'état de contraction de la pupille, mais l'excitation électrique du sympathique cervical dilate plus difficilement la pupille. Avec une dose quintuple de calcium dans le Ringer, la pupille se contracte légèrement; elle se dilate, quoique plus difficilement, lorsqu'on excite le sympathique.

Dans les expériences où nous avons employé la dose décuple de calcium, on voit, dès le changement de liquide de perfusion, la pupille se contracter peu à peu et devenir bientôt ponctiforme ; à ce moment l'excitation du sympathique est ou bien sans effet ou bien la pupille ne se dilate que très légèrement pour revenir immédiatement à l'état de contraction absolue, dès l'arrêt de l'excitation.

Ces observations faites sur la pupille de la tête de lapin perfusée sont donc bien en concordance avec celles d'AUER et MELTZER sur la pupille du lapin *in toto*.

La suppression du calcium par le citrate commence par dilater la pupille, mais après dix minutes de perfusion la pupille se contracte et devient insensible à l'excitation du sympathique.

La diminution du calcium ne semble avoir aucune action propre sur l'état de contraction pupillaire. Mais après cinq minutes de perfusion, l'excitation du sympathique cervical produit une forte mydriase. Une diminution du calcium semble donc produire également une hypersensibilité pupillaire à l'excitation sympathique.

En résumé : l'excès et la suppression du calcium contractent la pupille et diminuent ou suppriment la réaction pupillaire à l'excitation du sympathique cervical. Une diminution de calcium paraît pouvoir augmenter l'excitabilité pupillaire sympathique.

II. — POTASSIUM.

A. — ACTION VASCULAIRE.

Il en est pour le potassium comme pour le calcium : son action vasculaire est fort discutée.

KOBERT (51), perfusant la patte de veau, obtient une légère vasodilatation par injection de chlorure de potassium ; il observe de même une forte vasodilatation de la patte postérieure de chien par injection de nitrate de potassium. D'après THOMSON (17), le chlorure de potassium dilate les vaisseaux de la rate et du rein de mouton ainsi que les vais-

seaux de la grenouille. POLDROCK (52) range également les sels de potassium parmi les vasodilatateurs. BRAUN (53) par contre conclut que l'augmentation de pression sanguine qui s'observe par injection intraveineuse de nitrate de potassium est due à une action périphérique vasoconstrictrice du potassium. Ces conclusions furent confirmées par HELD (54) PODCOPAEW (55) au contraire rattache cette action vasoconstrictrice, en partie au moins, à une excitation des nerfs vasomoteurs. MATHISON (56) a repris ces expériences avec le chlorure de potassium qu'il injecte dans la carotide, vers le cœur : la pression sanguine s'élève, en même temps il observe de la vasoconstriction périphérique au pléthysmographe. D'après cet auteur l'action hypertensive du chlorure de potassium est due et à une action sur le centre vasomoteur et à une action directe sur la paroi vasculaire. BRUNTON et CASH (57), quelques années plus tôt, avaient d'ailleurs également conclu à une action vasoconstrictrice directe du potassium sur les vaisseaux de la grenouille. De même ASTOLFONI (58) dans ses expériences de perfusion du rein et train postérieur du chien, obtint toujours de la vasoconstriction par injection soit de chlorure, soit de nitrate, soit encore de carbonate de potassium. Tel n'est cependant pas l'avis de AUBERT et DEHN (59) pour qui l'action des sels de potassium serait uniquement cardiaque et nullement vasculaire.

Cette question a été reprise ces dernières années. GUNZBURG (20), perfusant la grenouille avec du Ringer sans potassium, voit se produire au début un écoulement de liquide plus rapide et plus abondant ; ultérieurement l'écoulement diminue à cause de la compression des vaisseaux par l'œdème. H. J. et R. J. HAMBURGER (25) lèvent le spasme vasculaire causé par l'excès de calcium en ajoutant du chlorure de potassium au liquide de perfusion de la grenouille. Chez la grenouille encore ALDAY-REDONNET (24) et HOOKER (23) admettent que le potassium est vasodilatateur, alors que SCHMIDT (21) au contraire obtient régulièrement de la vasoconstriction. A. J. CLARKE (60) signale que sur la grenouille et l'excès et la diminution de potassium donnent de la vasoconstriction. D'après SOLMANN (18) enfin, l'excès et la suppression du potassium constituent tous deux une excitation sympathique des vaisseaux : ceux-ci se contractent.

En présence de ces divergences il paraissait intéressant de reprendre l'étude de l'action vasculaire périphérique du potassium.

I. — *Injection de sels de potassium dans le tube de perfusion.*

Comme sels de potassium nous avons employé surtout le KCl en solution isotonique à 1,15 % ; subsidiairement aussi le KBr à 1 % et le KNO_3 à 1 %.

Lapin 73. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide de perfusion : 75 cm^3 sang + 225 cm^3 Ringer.

Injection	Cm. manomètre eau		Variations
	avant	après	
0,2 cm^3 KCl 1,15%	62	84	+22

Lapins 66 et 67. Perfusion train postérieur. Pression au manomètre. Liquide de perfusion : 75 cm^3 sang + 225 cm^3 Ringer.

Lapin	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
		avant	après	
N° 66	1 cm^3 KCl 1,15%	66	71	+ 5
N° 67	idem.	80,4	96,4	+16

Chat 1. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide de perfusion : 75 cm^3 sang + 225 cm^3 Ringer.

Chat	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
		avant	après	
N° 1	0,3 cm^3 KCl 1,15%	68	84	+16
	idem.	62	76	+14

Chats 3 et 10. Perfusion arrière-train. Pression au manomètre. Liquide de perfusion : 100 cm^3 sang + 300 cm^3 Ringer.

Chat	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
		avant	après	
N° 3	0,5 cm^3 KCl 1,15%	72	78	+ 6
N° 10	1 cm^3 KCl 1,15%	72	110	+38

Chien 4. Perfusion patte. Pression au manomètre. Liquide de perfusion : 150 cm^3 sang + 350 cm^3 Ringer.

Chien	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
		avant	après	
N° 4	2 cm³ KCl 1,15%	52	76	+24

L'action vasculaire périphérique du KCl est donc nettement vasoconstrictrice. Cette action s'étend aussi bien aux vaisseaux de la tête qu'à ceux du train postérieur du lapin et aux vaisseaux de la tête et du train postérieur du chat et du chien.

Pour contrôler si la vasoconstriction est bien due à l'ion K, nous avons encore injecté du KBr et du KNO_3.

Lapins 71 et 74. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide de perfusion : 75 cm³ sang + 275 cm³ Ringer.

Lapin	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
		avant	après	
N° 71	0,5 cm³ KBr 1%	96	109	+13
N° 74	1 cm³ KNO3 1%	60	73	+13

Les sels de potassium sont donc vasoconstricteurs. Remarquons que l'injection des sels de potassium produit de la vasoconstriction lorsque les vaisseaux sont dilatés par l'excès de calcium comme en témoigne l'expérience suivante :

Lapin 63. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer ; Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer contenant 5 fois la quantité normale de calcium.

Temps	Liquide de perfusion	Cm. manomètre eau	Variations
17 h. 10'	Liquide I	49	
10'10"	» II	49	
10'35"		41	
15'20"		32	—17
15'35"	Inj. 1 cm³ KCl à 1,15%	32	
18'40"		68	+36

2. — *Perfusion avec un liquide contenant un excès de potassium.*

La perfusion avec des solutions contenant une dose de KCl double de la dose normale produit une vasoconstriction lente et progressive.

Examinons l'effet de plus fortes doses de KCl ajoutées au Ringer.

Lapin 60. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 25 cm³ sang + 125 cm³ Ringer normal. Liquide II.: 25 cm³ sang + 125 cm³ Ringer contenant 5 fois la dose normale de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Cm. manomètre eau avant	après	Variations
16 h. 43'	Liquide II	50	82	+32
55'40"	» I	94	67	—27
17 h. 2'45"	» II	68	94	+26
8'30"	» I	90	42	—48

Cette expérience démontre l'action vasoconstrictrice du KCl ; le retour au liquide de Ringer normal lève cette action.

Lapin 57. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer contenant 10 fois la dose normale de potassium.

Temps	Liquide de perfusion	Cm. manomètre eau avant	après	Variations
17 h. 5'	Liquide I	40		
6'	» II	40	81	+41
18'15"	Inj. 1 ctgr. $CaCl_2$	124	73	—51
32'15"	Liquide I	92	40	—52

La dose décuple de KCl donne donc également une vasoconstriction énergique qui peut être levée soit par injection de $CaCl_2$ soit par retour au Ringer normal.

En résumé : le potassium est un vasoconstricteur périphérique énergique des vaisseaux de la tête et du train postérieur du lapin, ainsi que des vaisseaux de la tête et du train postérieur du chat et du chien. Nous n'avons pas pu déterminer l'effet de la suppression du KCl dans le liquide de perfusion, dans l'obligation où nous nous trouvions d'employer du sang dilué et nous ne disposons d'aucune substance qui, comme le citrate pour le calcium, nous permette d'éliminer le potassium.

B. — *Influence du potassium sur l'excitabilité du sympathique. cervical.*

Les travaux de HOWELL et DUKE (30) ont montré l'importance du potassium dans l'excitation du nerf pneumogastrique cardiaque. Ces expériences furent reprises et étendues ces dernières années, entre autres par J. BOUCKAERT (61) et TEN CATE (62) : d'après celui-ci l'augmentation du potassium diminue l'excitabilité du nerf vague de la grenouille, la suppression du potassium l'exalte.

Les données de la bibliographie sont très peu fournies en ce qui concerne l'influence de l'ion K˙ sur l'excitabilité électrique des nerfs vasomoteurs. Nous ne connaissons guère que HALBERTSMA (16) et ZWAARDEMAKER (63) qui l'aient étudiée sur la grenouille perfusée par la méthode de LÄWEN-TRENDELENBURG. Ils arrivent à la conclusion que le Ringer sans potassium maintient l'excitabilité électrique des nerfs vasomoteurs aussi bien que le Ringer normal.

Expériences.

L'injection de petites doses de 0,5 à 1 ctgr. de chlorure de potassium dans le tube de perfusion n'a guère d'action sur l'excitabilité sympathique ; l'action du potassium est trop passagère.

Voyons quel est l'effet de l'augmentation de la teneur en potassium du liquide de perfusion.

Lapin 62. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 35 cm^3 sang + 115 cm^3 Ringer. Liquide II : 35 cm^3 sang + 115 cm^3 Ringer contenant une dose ***double*** de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 18′ 10″	Liquide I	Chariot 10	5″	48	58	+ 10
29′ 10″	» II					
27′ 4″		» 10	5″	55	62	+ 7
45′ 10″		» 10	5″	64	67	+ 3
57′ 35″		» 10	5″	52	54	+ 2

La perfusion avec un liquide contenant une quantité de KCl double de la quantité normale diminue progressivement l'excitabilité du nerf sympathique cervical ; pour obtenir la même vasoconstriction qu'avec la solution normale il faut doubler la durée de l'excitation.

Lapin 60. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 25 cm³ sang + 125 cm³ Ringer. Liquide II : 25 cm³ sang + 125 cm³ Ringer contenant 5 fois la dose normale de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
16 h. 39′	Liquide I	Chariot 10	5″	46	56	+ 10
43′	» II					
50′ 30″		» 10	5″	82	83	+ 1
55′ 40″	» I					
58′ 30″		» 10	5″	67	73,6	+ 6,6
17 h. 1′		» 10	5″	66	74,5	+ 8,5
2′ 45″	» II					
6′		» 10	5″	92	92	0

Avec une dose quintuple de KCl l'excitabilité sympathique diminue rapidement. La cause n'en est pas que les vaisseaux sont contractés au maximum, car à ce moment, l'injection d'adrénaline peut encore les contracter davantage.

Lapin 57. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer. Liquide II : 50 cm³ sang + 100 cm³ Ringer contenant 10 fois la dose normale de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Excitation		Cm manomètre eau		Variations
		Intensité	Durée	avant	après	
17 h. 5′ 15″	Liquide I	Chariot 15	10″	46	57	+ 11
6′	» II					
10′ 45″		» 15	10″	76	76	0
32′ 15″	» I					
38′		» 1	10″	60	60	0

La dose décuple de KCl abolit rapidement toute excitabilité du nerf sympathique cervical, les vaisseaux sont cependant loin d'avoir atteint leur maximum de contraction.

C. — *Influence du potassium sur l'action vasculaire de l'adrénaline.*

Sur l'utérus et l'intestin de cobaye, M. Turolt (34) montre que l'augmentation de potassium renforce l'action inhibitrice de l'adrénaline sur le tonus musculaire. En ce qui concerne le cœur, Libbrecht

(41) voit les contractions cardiaques arrêtées par l'excès de potassium, reprendre par addition d'adrénaline. ALDAY-REDONNET (24), perfusant la grenouille selon la méthode de LÄWEN TRENDELENBURG trouve que l'augmentation de potassium dans le liquide de perfusion sensibilise la réaction vasculaire à l'adrénaline. SCHMIDT (21) au contraire voit l'action de l'adrénaline fortement diminuée, ou même invertie, par excès de potassium tandis que le manque de potassium sensibilise les vaisseaux envers l'adrénaline.

Expériences :

Lapin 62. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 35 cm^3 sang + 115 cm^3 Ringer. Liquide II : 35 cm^3 sang + 115 cm^3 Ringer contenant une dose ***double*** de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
			avant	après	
16 h. 26′ 55″	Liquide I	1 : 10.000 mgr. adrénaline	52	59	+ 7
29′ 10″	» II				
38′		idem.	65,6	70	+ 4,4
46′ 30″		idem.	66	69	+ 3

Lapin 58. Perfusion tête. Pression au manomètre. Liquide I : 35 cm^3 sang + 115 cm^3 Ringer ; Liquide II : 35 cm^3 sang + 115 cm^3 Ringer contenant une dose ***double*** de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
			avant	après	
16 h. 33′ 40″	Liquide I	1 : 10.000 mgr. adrénaline	48	54	+ 6
36′	» II				
44′ 30″		idem.	51	51	0
52′ 6″		idem.	50	50	0

Lorsqu'on double la quantité de KCl dans le Ringer on observe une diminution de l'effet vasoconstricteur de l'adrénaline pouvant aller jusqu'à l'abolition. Cette diminution est sensiblement parallèle à la diminution de l'excitabilité du sympathique. Il faut toutefois remarquer qu'une partie de cette diminution de la réaction vasculaire à l'adrénaline doit revenir à la vasoconstriction produite par l'excès

de potassium ; il est, en effet, impossible de faire le départ entre ce qui revient à l'action parésiante du potassium et ce qui revient à l'action constrictrice du potassium sur les vaisseaux.

Lapin 59. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide I : 35 cm³ sang + 115 cm³ Ringer : Liquide II : 35 cm³ sang + 115 cm³ Ringer contenant 5 fois la dose normale de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
			avant	après	
16 h. 32′ 45″	Liquide I	1 : 10.000 mgr. adrénaline	41,2	53	+ 11,8
37′	» II				
44′ 30″		idem.	44	56,4	+ 12,4
54′ 40″		idem.	73	81	+ 8
17 h. 1′ 15″		idem.	68	74,8	+ 6,8

Lapin 60. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide I : 25 cm³ sang + 125 cm³ Ringer. Liquide II : 25 cm³ sang + 125 cm³ Ringer contenant 10 fois la dose normale de KCl.

Temps	Liquide de perfusion	Injection	Cm. manomètre eau		Variations
			avant	après	
15 h. 41′ 50″	Liquide I	1 : 10.000 mgr. adrénaline	49	60	+ 11
43′	» II				
51′ 20″		idem.	84	93	+ 9

Les expériences faites avec des doses de KCl quintuples et décuples de la dose normale montrent que l'adrénaline perd une partie de son pouvoir vasoconstricteur; il ne se fait pas d'abolition de la sensibilité vasculaire envers l'adrénaline comme c'est le cas pour l'excitation électrique du nerf sympathique.

D. — Influence du potassium sur la pupille.

L'influence du potassium sur la pupille et l'excitabilité pupillaire du sympathique, à notre connaissance, n'a pas encore été étudiée.

Lorsqu'on perfuse la tête du lapin avec une dose de KCl double de la dose normale, au bout de quinze minutes la pupille se rétrécit légèrement et ne répond plus à l'excitation sympathique.

Dans les expériences faites avec une dose de KCl quintuple de la dose normale, la pupille qui se dilatait fortement par l'excitation électrique sympathique au cours de la perfusion avec la solution normale, se rétrécit progressivement dès le changement de liquide et devient ponctiforme. A ce moment elle ne répond plus à l'excitation sympathique. Le retour à la solution normale ramène la sensibilité pupillaire, quoique la dilatation sympathique se fasse plus lentement. Enfin une perfusion prolongée avec un excès de KCl peut abolir définitivement tout jeu pupillaire. Les résultats sont semblables quand le Ringer contient 10 fois la quantité normale de KCl.

Remarquons que la sensibilité de la pupille à l'excitation sympathique évolue parallèlement à la réaction vasculaire à cette même excitation.

Le potassium possède donc une action myotique sur l'œil de la tête de lapin perfusée ; il paralyse en outre les terminaisons pupillaires du nerf sympathique cervical.

CONCLUSIONS.

1. — Le calcium en excès dans le liquide de perfusion dilate les vaisseaux de la tête et du train postérieur du lapin et les vaisseaux des pattes du chien.

2. — Après diminution ou suppression du calcium dans le liquide de perfusion, par addition de citrate, il se produit de la vasoconstriction.

3. — L'excitabilité vasomotrice du nerf sympathique cervical diminue par excès de calcium dans le liquide de perfusion.

4. — L'excitabilité vasomotrice périphérique du nerf sympathique cervical est abolie après suppression du calcium ; la diminution de calcium par contre peut l'augmenter.

5. — L'excès de calcium diminue notablement l'action vasoconstrictrice de l'adrénaline, mais n'a pas d'influence notable sur la vasoconstriction causée par la pituitrine.

6. — La suppression du calcium dans le liquide de perfusion déprime la vasoconstriction adrénalinique ; celle-ci est parfois exaltée par diminution du calcium.

7. — L'excès ou la suppression de calcium contracte la pupille et diminue ou supprime la dilatation pupillaire par excitation du sympathique cervical.

8. — Une diminution du calcium peut augmenter la sensibilité pupillaire sympathique.

9. — L'excès de potassium produit la vasoconstriction des vaisseaux de la tête et du train postérieur du lapin, du chat et du chien.

10. — Le potassium en excès diminue l'excitabilité vasomotrice

du sympathique cervical et rend les vaisseaux moins sensibles à l'adrénaline.

11. — L'excès de potassium contracte la pupille et diminue la dilatation pupillaire obtenue normalement par excitation du sympathique cervical.

BIBLIOGRAPHIE.

Technique.

1. ROTHLIN : *Biochem. Zeitschft.* 1920, CXI, p. 219.
2. ATZLER u. LEHMANN : *Pflügers Arch.* 1921, CXC, p. 118.
3. LÄWEN-TRENDELENBURG : *Arch. f. exper. Path. u. Pharmak.* 1904. LII, p. 415 et 1910, LXIII, p. 162.
4. SCHMIDT : *Ber. d. Kgl. sächs. Gesellschaft. d. Wissensch. Leipzig.* 1867. p.113.
5. HÉGER : *Expér. sur la circ. du sang dans les org. isolés.* Bruxelles. 1873.
6. MOSSO : *Ber. d. Kgl. sächs. Geselschft. d. Wissensch. Leipzig.* 1874, XXVI, p. 305.
7. PISSEMSKY : *Pflügers Arch.* 1914, CLVI, p. 426.
8. PEARCE : *Zeitschft f. Biologie.* 1912, LXII, p. 274.
9. LAPICQUE et BOIGEY : *C. R. Soc. Biolog.* 1912, LXXI, p. 367.
10. GASKELL : *Journ. of Physiol.* 1878, I, p. 273.
11. V. FREY : *Leipzicher Arbeiten.* 1876, XI, p. 187.
12. BIEDL u. WIESEL : *Pflügers Arch.* 1902, XCI, p. 434.
13. BRODIE and DIXON : *Journ. of Physiol.* 1904, XXX, p. 476.
14. CARDONE : *Il policlin. sez. med.* 1910, XVII, f. 11-12.
15. BOWDITCH and WARREN : *Journ. of Physiol.* 1886, VII.
16. HALBERTSMA : *Onderzoek. Physiol. Labor.* Utrecht. 1922. III. p. 1.

Calcium et Potassium.

18. THOMSON : *Inaugural dissertation Dorpat.* 1886.
18. SOLMANN : *Physiologic. Reviews.* 1922, II, n° 4, p. 479.
19. RUTKEWITSCH : *Pflügers Arch.* 1909, CXXIX, p. 487.
20. GUNZBURG : *Arch. Neerland. Physiol.* 1918, II, p. 364.
21. SCHMIDT : *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmak.* 1921, LXXXIX, p. 144.
22. TESCHENDORFF : *Bioch. Zeitschft.* 1921, CXVIII, p. 267.
23. HOOKER : *Amer. Journ. of Physiol.* 1911, XXVIII, p .361.

24. ALDAY-REDONNET : *Bioch. Ztschft.* 1920, CX, p. 306.
25. HAMBURGER : *Vers. Koninkl. Akad. v. Wetensch.* 1922, XXXI, p. 63.
26. NOYONS : *Arch. Néerland. Physiol.* 1924, IX, p. 283.
27. WEHLAND : *Skandin. Arch. f. Physiol.* 1924, XLV. p. 211.
28. BRULL : *C. R. Soc. Biologie.* 1924, XCI, p. 371.
29. LOEB : *Pflügers Arch.* 1902, XCI. p. 248.
30. HOWELL and DUKE : *Journ. of Physiol.* 1908, XXXI, p. 131.
31. CHIARI u. FRÖHLICH : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1920, LXIV, p. 214 et 1911, LXVI, p. 110.
32. LOEWI : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1912, LXX, p. 343.
33. SUGIMOTO : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1913, LXXIV, p. 27.
34. TUROLT : *Arch. f. Gynaek.* 1922, CXV, p. 600.
35. LANGLEY : *Journ. of Physiol.* 1901, XXVII, p. 237.
36. MELTZER : *Amer. Journal of Physiol.* 1904, XI, p. 28.
37. AUER et MELTZER : *Ztblt. f. Physiol.* 1908 XXII, p. 245.
38. BURRIDGE : *Quart. Journ. of Exper. Physiol.* 1912, V, p. 347.
39. KOLM et PICK : *Pflügers Arch.* 1921. CLXXXIX, p.137.
40. FR. KRAUS. : *Dtsch. Med. Wochenschft.* 1920. n° 8, p. 201.
41. LIBBRECHT : *Arch. Intern. Physiol.* 1920, XV, p. 352.
42. O'CONNOR : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1912, LXVII, p. 195.
43. TRENDELENBURG : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1916, LXXIX, p.154.
44. BACKMANN : *Zeitschft f. Biol.* 1907, LXVII, p. 307.
45. MEDICI : *Bioch. Zeitschft.* 1924, CLI, p. 133.
46. HATCHER : *Americ. Journ. Physiol.* 1905, XV, p. 144.
47. ZUCKERSTEIN : *Zeitschft. f. Biol.* 1917, LXVII, p. 293.
48. DEL CAMPO : *Zeitschft. f. Biologie.* 1918, LXIX, p. 87.
49. COW : *Journ. of Physiol.* 1911, XXXXII, p. 125.
50. SCHRANK : *Zeitschft. f. Klin. Med.* 1910, LXVII, p. 230.
51. KOBERT : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1886, XXII, p. 77.
52. POLDROCK : *Arch. d. Pharmak. Inst. Dorpat.* 1896, XIII, p. 92.
53. BRAUN : *Pflügers Arch.* 1904, CIII, p. 476.
54. HELD : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1905, LIII, p. 227.
55. PODCOPAEW : *Virchows Arch.* XXXIII.
56. MATHISON : *Journ. of Physiol.* 1911. XXXXII, p. 471.

57. BRUNTON and CASH : *Textbook of Pharmac.* 3[th] Ed. 1887, p. 318.

58. ASTOLFONI : *Arch. intern. Pharmac. et Thérap.* 1903, XI, p. 381.

59. AUBERT et DEHN : *Pflügers Arch.* IX.

60. A. J. CLARKE : *Journ. of Pharmacol. and exper. Therap.* 1921, XVIII, p. 423.

61. J. BOUCKAERT : *Arch. Intern. de Physiologie.* 1921, XVII, p. 453.

62. TEN CATE : *Arch. Néerl. Physiol.* 1921, VI, p. 372.

63. ZWAARDEMAKER : *Onderzoek. Physiol. Laborat.* Utrecht, 1922, III, p. 193.

TRAVAIL DES LABORATOIRES A. LUMIÈRE DE PHYSIOLOGIE EXPÉRIMENTALE ET DE PHARMACODYNAMIE.

CONDITIONS SUR LA TOXICITÉ DU SÉRUM GÉLOSÉ

PAR

AUGUSTE LUMIÈRE & HENRI COUTURIER.

Les nombreuses recherches que nous avons poursuivies dans le domaine de l'anaphylaxie, depuis plusieurs années, nous ont conduits à cette conception que les chocs anaphylactoïdes et anaphylactiques résultent de l'introduction dans la circulation de précipités chimiquement inertes ou de la formation, dans le plasma sanguin, de floculats provenant de la réaction de l'antigène sur certaines protéines sériques.

A cette notion, M. le Prof. BORDET a opposé ses intéressantes expériences sur le sérum gélosé : mis en contact pendant quelques heures avec une solution de gélose, le sérum normal de cobaye devient toxique pour cet animal, bien qu'il soit parfaitement limpide et qu'il ne renferme ni floculats, ni précipités (1).

Ces expériences ont été répétées par de nombreux physiologistes et notamment par NATHAN, ZUNZ, DALE, FRIEDBERGER, LOEWIT et BAYAR, P. HAREN, NOVY et DEKRUIF etc.... qui ont tous confirmé les résultats du Prof. BORDET.

Cependant, nous croyons avoir démontré dans un récent travail (2) que la toxicité du sérum ainsi modifié par l'addition de cette substance n'était due qu'à des particules insolubles, soit de gélose, soit d'un complexe gélose-sérum, demeurées en suspension dans le milieu, car nous avons constaté qu'une centrifugation suffisante rend la préparation complètement inoffensive.

---

(1) J. BORDET. Les théories actuelles de l'anaphylaxie. *C. R.*, t. 179, pp.243-249.

(2) AUGUSTE LUMIÈRE et HENRI COUTURIER. Sur la toxicité du sérum gélosé *Arch. Internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie*, t. XXX, pp. 151-155.

Or, notre éminent contradicteur n'a pas confirmé ces faits et nous assure que la nocivité du sérum gélosé subsiste malgré la centrifugation la plus énergique (1).

Il ne nous est point venu à l'idée un seul instant de mettre en doute la réalité des résultats de M. le Prof. BORDET et comme, d'autre part, nous étions bien certains de l'exactitude de ceux que nous avions obtenus, nous devions nécessairement conclure que la divergence des effets expérimentaux enregistrés ne pouvait provenir que d'une différence dans les techniques mises en œuvre.

Nous n'avions pas, dans ces conditions, d'autre ressource, pour élucider la question, que de demander à M. le Prof. BORDET de vouloir bien nous indiquer le procédé précis auquel il s'était arrêté dans ses essais, renseignement qu'il nous adressa aussitôt avec la plus grande obligeance et dont nous le remercions vivement.

Nous conformant exactement aux indications qui nous avaient été données, nous avons opéré de la façon suivante :

1° *Préparation de la gélose.* — On introduit 0 gr. 50 de gélose dans 100 cc. d'eau salée à 7 °/₀₀, puis on chauffe à 120° pendant 15 minutes. Au sortir de l'autoclave, la solution non filtrée est répartie dans des tubes à essai qui sont scellés à la lampe, puis autoclavés de nouveau, pour stérilisation, pendant 20 minutes à 115°. Les tubes, devant être refroidis rapidement, sont plongés d'abord pendant une minute dans l'eau chauffée à 50°, puis une minute dans un autre bain à 15° et enfin dans la glace fondante. Moins de deux minutes après cette dernière immersion, la solidification est complète. Les tubes sont alors agités fortement pour transformer la masse qu'ils renferment en un liquide visqueux qui ne se gélifiera plus, même après plusieurs jours.

Conformément à de nouvelles observations de M. le Prof. BORDET, dans une autre série d'essais, on a laissé refroidir spontanément les tubes à la température du laboratoire et, d'autre part, ces tubes n'ont été scellés qu'après leur passage à l'autoclave.

2° *Préparation du sérum.* — On recueille le sang de quatre cobayes neufs, de grosse taille et, aussitôt après coagulation, on sépare le sérum par centrifugation. Le sérum total (25 cc. environ) est centrifugé une deuxième fois à 8 ou 9000 tours pour éliminer tout élément solide.

On le divise alors en deux portions égales : l'une devant servir de témoin, on ajoute à l'autre une partie de gélose préparée comme

(1) J. BORDET. Remarque sur la note de MM. AUGUSTE LUMIÈRE et HENRI COUTURIER, intulée « Sur la toxicité du sérum gélosé ». *Arch. Internat. de Pharmacodynamie et de Thérapie*, t. XXX, fascicule V-VI, p. 353.

ci-dessus pour 5 parties de sérum. Au moment où on opère le mélange, le sérum est âgé d'une heure environ ; on agite vigoureusement et on met à l'étuve à 37°.

Les propriétés du sérum aussitôt sa récolte opérée, étant notablement différentes de celles du même sérum abandonné à lui-même pendant un certain temps, nous avons aussi utilisé, dans un autre groupe de recherches, du sérum recueilli 24 h. auparavant.

Afin que l'expérience témoin soit faite dans des conditions identiques, la première portion du sérum pur est mise à l'étuve en même temps et à côté de l'autre.

Après deux heures de séjour à 37°, les deux échantillons sont abandonnés encore pendant 1 h. ½ à la température du laboratoire (17°).

Enfin, on les centrifuge en même temps tous les deux, une première fois pendant 25 minutes à 8-9000 tours puis, après décantation, une seconde fois à la même vitesse pendant 1/4 d'heure.

3° *Injection aux animaux.* — L'injection, suivant les indications du Prof. BORDET, est pratiquée dans la jugulaire à la dose de 5 cc. Deux cobayes pesant chacun 285 gr. sont ainsi traités par le sérum gélosé, la durée de l'injection étant de 25 secondes. Cette injection n'est pas terminée que les animaux sont déjà dans le coma. Remis dans leur cage, ils restent inanimés pendant 30 à 35 secondes, puis présentent des mouvements incoordonnés et parviennent à se relever au bout de 2 minutes ; ils marchent alors très péniblement et sont hérissonnés, mais leur démarche tout d'abord hésitante devient peu à peu assurée et normale et au bout d'un quart d'heure, il ne reste rien de ces troubles.

Les accidents observés consistent donc en un choc immédiat brutal, un peu semblable à celui que donnerait une dose para mortelle de sulfate de baryte, mais sans convulsions véritables, ni hoquets.

Ces expériences confirment donc en tous points les affirmations de M. le Prof. BORDET ; mais empressons-nous d'ajouter que les symptômes de choc enregistrés ne sont nullement dûs à la gélose car le sérum pur, traité de la même façon mais non gélosé, utilisé dans les essais témoins chez deux autres cobayes de 280 et 290 gr. a donné exactement les mêmes accidents. Ce qui montre simplement que l'on ne peut pas injecter impunément 5 cc. de sérum, soit environ 1/4 de la masse sanguine, dans la circulation d'un cobaye, surtout si l'injection est rapide, sans provoquer des troubles graves.

Si, au lieu d'être pratiquée en 25 secondes, cette injection est complètement terminée en 15 secondes, la crise est plus sévère et plus prolongée. Si, au contraire, cette injection est poussée lentement, en 40 à 60 secondes, par exemple, on n'observe plus le moindre choc.

Ces investigations confirment donc en tous points nos conclusions antérieures.

Le sérum de cobaye, mis en contact avec la gélose et employé à la dose de 1 *à* 2 *cc. ne doit sa toxicité qu'à la présence de particules de cette substance ou à celle d'un complexe gélose-sérum insoluble qui subsistent en suspension dans le milieu quand la centrifugation a été insuffisante.*

Après centrifugation convenable, de telles préparations ne sont pas plus nocives que le sérum normal non gélosé.

---

dell' aconitina (1 fig.), p. 377. — ALFREDO CHISTONI, Sul comportamento dell'acido acetilsalicilico nell'organismo p. 397. — E. HUYGHEBAERT, Action hémolytyque du bleu de méthylène (1 fig.), p. 405. — E. HUYGHEBAERT, Sur le rôle de la rate dans l'intoxication, l'anémie et la regénération globulaire (5 fig.), p. 435. — D. DANIÉLOPOLU, D. SIMICI et C. DIMITRIU, Action de la papavérine sur l'estomac de l'homme (6 fig.). p. 471. — A. RADEMAEKERS and TORALD SOLLMANN, Investigations on saline cathartics. — I. Magnesium Sulphate on Excised Intestine: Minimal Concentration applied externally in Locke's Solution; Magnus method (6 fig.), p. 481. — LUIGI TOCCO-TOCCO, Sul meccanismo di arresto del cuore di rana sotto l'azione del cloruro di bario (11 fig.), p. 489.

1925. Vol. XXX. — EDGARD ZUNZ, Recherches sur l'action de la narcophine sur la digestion de la viande chez le chien (2 fig.), p. 1. — LUIGI TOCCO-TOCCO, Al di la' Dei cinque sensi. (Ricerche fisiologia entomologica) (1 fig. et 2 cartes), p. 65. — A. D'HAENENS, Esérine-atropine sur l'intestin de lapin in vitro (2 fig.), p. 77. — FR. WARMOES, Les contractions postmortelles de l'intestin, (1 fig.), p. 113. — S. DE BOER, N. B. DREYER et A. J. CLARK, Plain muscle stimulants in body fluids, p. 141. — AUGUSTE LUMIÈRE et HENRI COUTURIER, Sur la toxicité du sérum gélosé, p. 151. — AUGUSTE LUMIÈRE et MARCEL SORS, Effets de l'introduction des bases et des acides dans l'organisme. Variations de l'indice pH., (5 fig.), p. 157. — FR. WAERMOES, Les poisons du système nerveux local ou métasympathique de l'intestin (12 fig.), p. 171. — LÉO DECKERS, Chloroforme et éther Doses nécessaires aux différents stades de la narcose (20 fig.), p. 229. — GUGLIELMO SORBI, Influenza dello iodoformio, combinato con gli ipnotici, sull' eccitabilita generale in rana esculenta, p. 251. — G. PENNETTI, Ricerche sperimentali sul saturnismo, p. 255. — C. HEYMANS, Dosage biologique de l'activité vaso-hypertensive et ocytocique des extraits d'hypophyse (2 fig.), p. 275. — ACH. D'HAENENS, Localisation de l'arsenic après injections intraveineuses, p. 291. — C. DIMITRACOFF, L'excitabilité des nerfs accélérateurs du cœur et l'atropine (8 fig.), p. 311. — T. ALDAY REDONNET, Contribution à l'étude pharmacodynamique et toxicologique du Somnifène, (5 fig.), p. 321. J. BORDET, Remarques sur la note de MM. Auguste Lumière et Henri Couturier, intitulée « Sur la toxicité du sérum gélosé », p. 353.— KLAUS HANSEN, Ein exakteres Mass für den Alkoholisierungsgrad des Organismus bei psychischen und psychophysiologischen Alkoholversuchen (3 fig.), p. 355. — MARIO AJAZZI-MANCINI, Sull'azione della sodio-nitro-canfora. — Contributo alla farmacologia della canfora Ricerche sperimentali (13 fig.), p. 385. — C. HEYMANS et A. LADON, Recherches physiologiques et pharmacologiques sur la tête isolée et le centre vague du chien. — I. Anémie, asphyxie, hypertension, adrénaline, tonus pneumogastrique, hyperthermie (16 fig. dont 1 hors texte). p. 415. —Index bibliographique des volumes I-XXX des Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie : I. — Table des auteurs, p. I. — II. — Table des matières, p. XXVII.

1925. Vol. XXXI. — MARIO CHIO, Sulla funzione del cuore isolato di rana (15 fig.), p. 1. — TORALD SOLMANN and A. RADEMAEKERS, Investigations on saline cathartics. — II. Magnesium Sulphate on the Peristalsis and the Propulsion in Small Intestines (20 fig.), p. 39. — PIETRO-MARIA NICCOLINI, Sul sinergismo tra farmaci ed ormoni, Nota 1ª: Digitalici e tiroide (5 fig.), p. 71. — LUIGI TOCCO-TOCCO, Sull'importanza della reazione della strofantina, praticata facendo agire l'acido solforico sul seme di strofanto con un nuovo procedimento, e sulla conservazione dei semi di strofanto, p. 91. — LUIGI TOCCO-TOCCO, Ricerche chimiche e farmacologiche sui rapporti che esistono fra le reazioni che i semi di strofanto danno con acido solforico e la loro attività biologica, p. 107. — ALFREDO CHISTONI, Ricerche farmacologiche sopra un colloide di bismuto, p. 121. — LUIGI TOCCO-TOCCO, Sulla diffusione dei farmaci. — Contributo alla conoscenza del meccanismo intimo di diffusione dei farmaci, p. 145. — J.-J. BOUCKAERT, Influence de l'éthylène sur les échanges respiratoires, la pression sanguine, le cœur isolé et les levures, (9 fig.), p. 159.

Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. XXXI, fasc. III-IV.

Les Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie

paraissent par fascicules, avec planches et figures intercalées dans le texte au fur et à mesure que les travaux parvenus à la rédaction le permettent.

Six fascicules forment un volume d'environ 500 pages.

Prix du volume XXXI : **100** francs belges.

Prix des volumes antérieurs : **80** francs belges.

Les auteurs reçoivent 50 tirés à part.

Secrétariat de la rédaction : Institut de Pharmacodynamie, 3 Quai Baertsoen, Gand (Belgique)

MAISON D'ÉDITION VANDERPOORTEN & C°, RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.

ARCHIVES INTERNATIONALES

DE

Pharmacodynamie et de Thérapie

PUBLIÉES PAR

E. GLEY, Paris **et J.-F. HEYMANS**, Gand

AVEC LA COLLABORATION DE

VOLUME XXXI, FASCICULE V-VI.

BRUXELLES
H. LAMERTIN, ÉDITEUR,
58, RUE COUDENBERG

PARIS
O. DOIN, ÉDITEUR
8, PLACE DE L'ODÉON.

1926

Table des matières des volumes antérieurs.

ISTITUTO DI FARMACOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PADOVA
DIRETTO DAL PROF. LUIGI SABBATANI.

DEL SATURNISMO IN RAPPORTO ALLE COSTANTI FISICHE DEI SALI DI PIOMBO

PER

Dr LUIGI SCREMIN.

Da alcune ricerche compiute per stabilire lo stato chimico del piombo circolante è risultato che il Pb nel torrente circolatorio e linfatico si trasforma in un fosfato e circola come tale (1).

Era tuttavia necessario domandarsi se i carbonati e i cloruri, presenti in grande copia nel plasma sanguigno potessero reagire col Pb e formare anche altri sali, in relazione con la quantità in cui i rispettivi anioni si trovano nel plasma e con la solubilità dei sali di Pb cui possono dare origine : questi, alla loro volta, potrebbero o coesister accanto al fosfato, od unirsi ad esso sotto forma di sali doppî o complessi.

Ancora era necessario domandarsi come l' H_2CO_3, che si trova anche sciolto nel plasma potesse influire sulla ripartizione del Pb fra i diversi anioni.

Per rispondere a queste domande, studiai come avviene la ripartizione del Pb in miscele contenenti in rapporti variabili i sali che si trovano in maggiore quantità nel plasma sanguigno, e nei tessuti.

Ripartizione del Piombo fra fosfato e carbonato.

I sali, il cui anione ha la maggiorc probabilità di combinarsi con il Pb^{++}, dopo i fosfati, sono i carbonati, che si trovano nel sangue in quantità maggiore dei fosfati. Carbonati neutri non esistono nel sangue, ma solo bicarbonati : tuttavia ho cominciato con lo studiare come avviene la ripartizione del piombo fra fosfati e carbonati neutri.

In una lunga serie di esperienze, mescolavo soluzioni esattamente

(1) SCREMIN, *Arch. f. exper. Pathol. u Pharmak.*, Bd. 105, p. 49 ss.

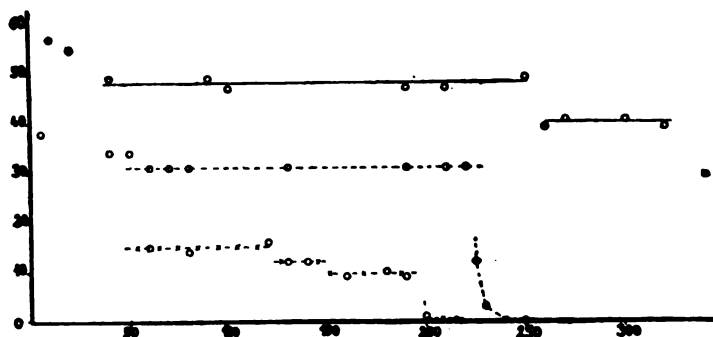
titolate di Na_2HPo_4, Na_2Co_3, Pb $(No_3)_2$ ad acqua, in modo da raggiungere in un volume costante una concentrazione fissa di Pb (gr. normal mol. 0,006 p. 1000 cc.) e una c. variabile di carbonato e fostato.

Lasciate in riposo le miscele per qualche giorno a t di 18°-20° per raggiungere sicuramente un equilibrio definitivo fra le due fasi (precipitato e liquido soprastante), filtravo il liquido e, dopo aver controllato la mancanza di Pb nel filtrato (1) in quantità apprezzabili (dipendenti della estremamente piccola solubilità dei sali formatisi), determinavo il Po_4^{---} residuo, cioè non saturato dal Pb^{++}, servendomi di una soluzione di Acetato di Uranile (2).

In queste esperienze si è variato il carbonato da o a gr. n. mol. 0,05 p. 1000, tenendo fissa la c. del fosfato bisodico a gr. n. mol 0,006 ; 0,004 ; 0,002 p. 1000. Si sono avute cosi tre serie di risultati, i quali indicano la quantità di Po_4^{---} fissata dal Pb^{++}.

Rappresentandoli nel solito sistema delle coordinate con il segno ∘, possiamo tracciare tre curve le quali indicano come varia la quantità del fosfato di piombo che si forma in queste condizioni, in funzione della concentrazione del carbonato bisodico.

Nella prima serie di esperienze, i cui risultati sono esposti graficamente nella prima curva della Fig. 1, il Na_2 HPo_4 e il Pb $(No_3)_2$ erano in qualità stechiometricamente eguali : gr. n. mol. 0,006 p. 1000.

Fig. 1.

Nella seconda, la quantità del fosfato ere 2/3 di quella del nitrato (g. n. m. 0,004) ; nella terza 1/3 (0,002).

Nella figura, le concentrazioni del fosfato sono segnate sull'asse delle ordinate e le concentrazioni del carbonato su quello delle ascisse. Le une e le altre in gr. n. mol. $\times$ 10^4.

---

(1) Il piombo era presente nel filtrato solo in quei saggi nei quali la somma delle quantità di fosfato e carbonato era inferiore stechiometricamente alla quantità di piombo aggiunta.

(2) Dovendo fare una lunghissima serie di analisi quantitative, ho scelto questo metodo di analisi volumetrica, poichè non sarebbe stato cosa pratica procedere per

All' inizio della prima curva, trovandosi il Pb^{++} e il PO_{---}^{4} in quantità stechiometricamente eguali, ed essendo o la c. del carbonato, si deve formare solo fosfato di piombo. Quando sono in gioco, agli stessi rapporti fra Pb e fosfato, piccole quantità di Na_2Co_3, comincia subito ad avvenire la ripartizione e la quantità di fosfato che si forma diminuisce fino al rapporto fosfato 60 : carbonato 40. Da questo punto, per un lunghissimo tratto, pure aumentando la c. di carbonato, la quantità di fosfato di piombo che si forma resta costante a gr. n. mol. 0,0048 p. 1000 cc. fino al rapporto fosfato 60 : carbonato 250. A questo rapporto notiamo un salto : la quantità di fosfato scende bruscamente a 40 e si mantiene a questo livello fino a una c. di 320 circa di carbonato. Aumentando ancora la c. di carbonato, diminuisce ulteriormente e pare bruscamente la quantità di fosfato di piombo, tuttavia, anche quando il rapporto fra carbonato e fosfato è di 8 : 1, oltre un terzo del piombo si fissa come fosfato.

Sul significato di questo andamento torneremo in seguito.

La seconda curva (esper. con Na_2HPo_4, gr. n. m. 0,004 in 1000) indica la ripartizione del Pb, quando il fosfato di sodio si trova in minor quantità rispetto al Pb. In questo caso, quando il carbonato è o, non tutto il Pb si combinerà col fosfato che è in difetto, e una parte passa appunto nel filtrato come Pb $(No_3)_2$. Già a piccole c. di $Na_2 Co_3$ una piccola parte di Pb passa a carbonato. La curva indica come, da un certo valore in su, anche in questo caso, pure aumentando la c. del carbonato, dal rapporto fosfato 40 : carbonato 60 fino al rapporto 40 : 220, resta costante la quantità di fosfato che si forma, e diminuisce subito bruscamente per arrivare presto a o.

La terza curva (esper. con fosfato gr. n. mol. 0,002 p. 1000) mostra ancora come, col crescere della concentrazione del carbonato, la quantità di fosfato di piombo che si forma resta costante, a 15 (gr. n. mol. 0,0015) per variazioni della c. di carbonato da 60 a 120 ; scende subito dopo a 12 e successivamente a 9,5, dove si mantiene fino a 190 di carbonato. Scende dopo bruscamente a o.

* * *

Queste curve si prestano ad alcune considerazioni. Nelle nostre miscele il Pb poteva combinarsi col fosfato e col carbonato. L'ambiente alcalino nel quale (tranne nei primi tratti della curva, come è facile comprendere dai dati sperimentali) avviene la reazione fra $Pb(No_3)_2$

---

pesata. Mi sono note le obiezioni fatte in generale alla esattezza di questo metodo, riassunte da KLEINMANN, in *Biochem. Zeitschr.*, 1919, Bd. 99, p. 35 s. Ma quando si abbia cura di adoperare una soluzione di uranile titolata nelle stesse condizioni, *sopratutto di concentrazione* che in seguito possono incontrarsi nelle analisi, i risultati sono soddisfacenti. Cfr. SPICA, *Chimica Medico farmaceutica*, 1896, vol. I, p. 418.

e Na_2HPo_4 fa sì che dalla reazione abbia origine fosfato trimetallico $Pb_3(Po_4)_2$ (1) la cui solubilità è di gr. norm. mol. 0,0000009 p. 1000 cc., inferiore quindi di circa 13 volte alla solubilità del $PbCo_3$: 0,0000120 gr. n. mol. p. 1000 cc.

Si poteva prevedere che, per una costante quantità di fosfato bisodico, variando quella di carbonato, il Pb^{++} sarebbe andato ripartendosi fra i due anioni, formando tanto meno fosfato, quanto più cresceva la quantità di carbonato, fino a che, aumentando fortemente la c. di carbonato rispetto al fosfato, tutto il Pb, per la legge della azione di massa, sarebbe passato a carbonato, non ostante la maggiore solubilità di questo di fronte al fosfato.

Ora, le curve tracciate con i valori ottenuti, mostrano che questa ripartizione fra fosfato e carbonato non è regolarmente progressiva come si poteva dubitare, ma avviene per salti.

Prescindendo dai primi tratti, vi sono variazioni anche fortissime della c. di carbonato, per le quali resta fissa la quantità di fosfato di piombo che va formandosi. Solo a determinati punti, che sembrano corrispondere a valori critici, i rapporti di ripartizione bruscamente cambiano.

Poichè ci è nota la quantità di $Pb(No_3)_2$ che viene impiegata, e questa è tutta fissata dal fosfato e dal carbonato, determinando la quantità legata come fosfato (dall' esame analitico della fase liquida, a precipitazione avvenuta), il rimanente di Pb sarà combinato come carbonato.

Ora, le quantità di fosfato e di carbonato precipitate dal Pb a quei rapporti fra le c. di carbonato e di fosfato ai quali la formazione del fosfato resta ad un valore costante per tratti più o meno lunghi, corrispondono a determinati rapporti stechiometrici che possono rappresentare dei sali doppî.

Il primo tratto della prima curva indica che su 60 parti di piombo (poichè sempre la q. aggiunta alla miscela era gr. n. mol. 0,0060 p. 1000), precipitano come fosfato 48 parti, quindi 12 precìpiteranno come carbonato. Sarà cioè $48 \frac{Pb_3(Po_4)_2}{6} + 12 \frac{PbCo_3}{2}$, cui corrisponde la formula : 4 $Pb_3(Po_4)_2$ 3 $PbCo_3$.

Il secondo tratto indica che su 60 parte di Pb, 40 vengono precipitate come fosfato e 20 come carbonato. Per questi rapporti, è giustificata la formula 2 $Pb_3(Po_4)_2$ 3 $PbCo_3$.

La seconda curva per il primo tratto indica che su 60 parti di Pb sono precipitate 31 come fosfato e 29 come carbonato. Vi corrisponderebbe la formula 3 $Pb_3(Po_4)_2$ 6 $PbCo_3$.

Nella terza curva, il primo tratto mostra come 15 parti sono

(1) FAIRHALL, *Journal of the American Chem. Society*, vol. XLVI, July 1924, p. 1507 s.

precipitate come fosfato e 45 come carbonato ; il secondo, 12 come fosfato e 48 come carbonato ; il terzo infine 9,5 come fosfato e 50,5 come carbonato. Vi corrisponderebbero, rispettivamente, le formule seguenti : $Pb_3(Po_4)_2$ 9 $PbCo_3$; $Pb_3(Po_4)_2$ 12 $PbCo_3$; $Pb_3(Po_4)_2$ 15 $PbCo_3$.

La seguente tabella mostra come, ammesse queste formule, i valori di Pb calcolati da esse corrispondano a quelli trovati nella analisi.

			Pb IN GR. NORM. MOl. PER 100			
	FORMULA DEL PRÉCIPITATO		Fosfato		Carbonato	
			calcol.	trovato	calcol.	trovato
Curva I tratto 1°	4 $Pb_3(Po_4)_2$	3 $PbCo_3$	80	80	20	20
» » 2°	2 $Pb_3(Po_4)_2$	3 $PbCo_3$	66,66	66,66	33,34	33,34
Curva II tratto 1°	3 $Pb_3(Po_4)_2$	6 $PbCo_3$	50	51,66	50	48,34
Curva III tratto 1°	$Pb_3(Po_4)_2$	9 $PbCo_3$	25	25	75	75
» » 2°	$Pb_3(Po_4)_2$	12 $PbCo_3$	20	20	80	80
» » 3°	$Pb_3(Po_4)_2$	15 $PbCo_3$	16,66	15,83	83,34	84,17

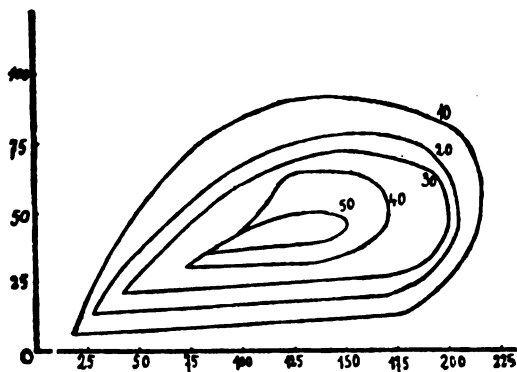
Come si vede, il più delle volte i valori calcolati coincidono con i trovati : due volte se ne scostano di poco. Queste formole sembrano dunque attendibili : esse corrispondono a carbofosfati di piombo (1).

STATO FISICO DEI CARBOFOSFATI DI PIOMBO.

Fatte le miscele per le precedenti ricerche, ho osservato fin dalle prime esperienze, che a determinati rapporti fra i tre sali il prodotto della reazione resta colloidale, per un tempo più o meno lungo, variabile con la temperatura. Talvolta la soluzione colloidale si trova ad un grado altissimo di dispersità. Per studiare questa fase, ho tenuto conto dei rapporti fa i tre sali, ai quali il prodotto della reazione resta colloidale alla t. di 8°-13° p. 24 h. Possiamo rappresentare i risultati di queste ricerche sul solito sistema delle coordinate, segnando sull'asse delle ascisse le concentrazioni di carbonato e sull'asse delle ordinate le concentrazioni di fosfato : per ogni concentrazione di Pb $(No_3)_2$, otteniamo una limitazione di area entro la quale si trovano i valori di carbonato e di fosfato cui corrisponde una soluzione

(1) Composti nei quali il Co_3^{--} entri accanto al Po_4^{---}, per il Pb, ch'io sappia, non sono mai stati sicuramente descritti (cfr. anche AMADORI, *Ricerche sul gruppo della piromorfite*, Roma, 1919, p. 99). Per il Ca, i cui minerali (fluoroapatite, cloroapatite...) hanno molte analogie con quelli di Pb (fluoro piromorfite, cloro piromorfite) sono noti dei calciocarbofosfati le cui formole corrisponderebbero abbastanza bene a quelle qui determinate per carbofosfati di piombo cfr. ROGERS, *Zeitschrift f. Krystall. u. Miner*, 1913, Bd. 52, p. 214 ss.

colloidale. Questa area, come si vede dalla Fig. 2 diventa sempre più ampia, diminuendo la concentrazione del Pb : come la figura indica, furono sperimentate concentrazioni di $Pb(No_3)_2$ di gr. n. mol. 0,0010 ; 0,0020 ; 0,0030 ; 0,0040 ; 0,0050 p. 1000 cc.

Fig. 2.

Se rappresentassimo questi risultati in un sistema a tre coordinate, le aree limitate dalle curve rappresenterebbero le sezioni parallele di una massa conica colloidale, essendo tutto all' intorno il prodotto della reazione in fase solida o liquida.

Dall' andamento delle curve si vede che il vertice di questo cono è verso il piano in cui il Pb si trova a gr. n. mol. 0,0060 p. 1000 cc. La base poi si trova a quella concentrazione di Pb minima alla quale la quantità dei due sali che si formano (carbonato e fosfato di Pb) è eguale al prodotto di solubilità dei sali stessi (gr. n. mol. 0,0000120 e 0,0000009 in 1000 cc).

La soluzione colloidale ottenuta in queste condizioni è di aspetto porcellanaceo, perfettamente limpida a luce diretta, presenta il Tyndall. Precipita subito ed abbondantemente trattata con soluzione concentrata di NaCl, NH_4Cl, $BaCl_2$, $MgCl_2$ (dopo poco tempo e meno abbondantemente se diluite). Precipita pure se trattata con acidi, ma il precipitato si comporta diversamente secondo la solubilità dei sali di Pb che hanno origine dalla reazione : con HNo_3 e HCl il precipìtato che si formerebbe in primo tempo si scioglie, con $H_2 So_4$. H_2Co_3. H_2S il colloide precìpita. Portata all' ebollizione non precipita, non resiste però all' ebollizione prolungata. La gelatina ne aumenta la stabilità.

L'esame ultramicroscopico mostra granuli di assai diversa grandezza : per la sua instabilità, la conta dei granuli è difficile e ì suoi risultati incerti.

Se per confronto si fa avvenire la reazione semplicemente fra il fosfato bisodico ed. il Pb $(No_3)_2$. mai si ottiene una soluzione colloi-

dale : il prodotto della reazione precipita subìto. La reazione fra un forte eccesso di carbonato e il nitrato dà origine ad una soluzione colloidale densa, lattiginosa, con tendenza e flocculare, di aspetto molto diverso da quella descritta, ottenuta dalla miscela di fosfato e carbonato.

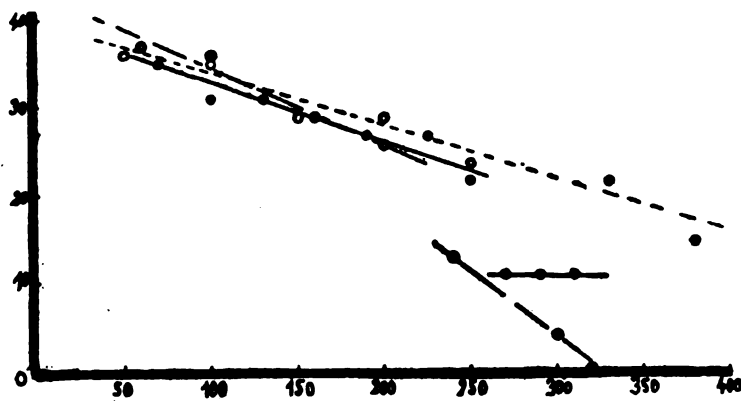
È ragionevole quindi chiedersi se lo stato fisico colloidale con i caratteri suoi sia dovuto alla formazione di un composto di piombo che contenga insieme i due anioni, fosforico e carbonico, cioè dì un sale doppio, un carbofosfato di piombo che in determinati limiti di concentrazione può rimanere colloidale. Pare ragionevole pensare che sia così, quando ricordiamo la possibilità che a determinati rapporti fra carbonato e fosfato, il Pb si leghi ai due anioni e formi sali doppi, come l'interpretazione delle curve della fig. 1 portava ad ammettere.

Ripartizione del Pb fra carbonato e fosfato in presenza di acido carbonico.

Ho eseguito un' altra serie di esperienze, facendo avvenire la reazione fra quantità fisse di Pb (0,006 p. 1000) e di fosfato (0,0040 p. 1000) e quantità crescenti di carbonato, in una miscela satura dì Co_2 a 10°-12°, ottenendo così la trasformazione del carbonato in bicarbonato e in presenza di Co_2.

In queste condizioni, operando a quelli stessi rapporti che permettevano prima la formazione della soluzione colloidale relativamente stabile, si ha subito un abbondante precipitato.

A precipitazione avvenuta, quando il liquido soprastante non presentava più il Tyndall, filtravo e nel filtrato dosavo il Po_4^{---} col solito metodo. I risultati di queste analisi sono segnate nella figura 3

Fig. 3.

col segno ● : essi dimostrano come varî il fosfato di piombo che si forma in funzione della concentrazione dell' $NaHCo_3$, quando la reazione avviene in soluzione satura di Co_2.

Come la curva dimostra, si ha in principio la formazione di una quantità un pò più grande di fosfato (gr. n. mol. 0,0035 p. 1000; nella figura i valori sono moltiplicati per 10^4) in confronto di quando la ripartizione avveniva fra carbonato neutro e fosfato. Aumentando la concentrazione del bicarbonato (fra 90 e 250), la quantità di fosfato diminuisce gradatamente e per una concentrazione di carbonato pari a [0,0]250 p. 1000 è di circa gr. n. mol. [0,00]23. Di qui, per un piccolo aumento nella concentrazione di carbonato, scende abbastanza bruscamente ad 11, mantenendosi per un certo tratto a questo livello. Cioè la presenza di $H\overline{Co_3}$ e H_2Co_3 libero permette la formazione del fosfato anche a quei rapporti fra le concentrazioni del Pb^{++} e Po_4^{---} ai quali, ove sia presente solo $\overline{\overline{Co_3}}$ del carbonato sodico tutto il Pb^{++} si lega come fosfato, cioè oltre il rapporto fosfato 40 : carbonato 220 p. 1000.

Questo si potrebbe interpretare richiamando le osservazioni di PLEISSNER e AUERBACH, secondo le quali il carbonato neutro di piombo è più solubile in acqua per la presenza di anche piccole quantità di Co_2 (1). In tutte queste esperienze il carbonato che si forma è più solubile del carbonato che si formava nelle esperienze della serie precedente e il sistema si sposta verso la fase meno solubile, rappresentata dal fosfato trimetallico. Per spostare l'equilibrio dalla parte del carbonato, occorre una massa di Co_3^{--} maggiore di quella necessaria nel caso precedente.

Ripartizione del Pb fra fosfato e carbonato in presenza di cloruró.

In una terza serie di esperienze studiai come la presenza del NaCl può influire sulla ripartizione del Pb fra carbonato e fosfato.

Mescolavo fosfato, carbonato, cloruro ed acqua con $Pb(No_3)_2$, così da avere una concentrazione costante di Pb (gr. n. mol. 0,0060 p. 1000) in volumi sempre eguali di miscela. A precipitazione avvenuta, studiavo la composizione del precipitato dall' esame analitico della fase liquida soprastante, dosando il Po_4^{---} e il Cl^-.

Nella Fig. 3 sono segnate con ∘ le quantità di Po_4^{---} saturate del Pb^{++} in una serie di esperimenti nei quali la c. del fosfato era a gr. n. mol. 0,004 p. 1000 cc. e quella del cloruro a 0,2 p. 1000 cc. — La linea - - - - mostra come varia a questi rapporti, per concentrazioni crescenti di Na_2Co_3 la quantità di $Pb_3(Po_4)_2$ che si forma.

Anche in queste condizioni sperimentali va diminuendo la quantità di fosfato che precipita col crescere della concentrazione di carbonato, ma questa diminuzione è meno rapida di quel che fosse quando,

(1) V. ABEGG, *Handbuch der Anorg. Chemie*, 3 Band, 2 Abteil, 1909, p. 725.

a quelli stessi rapporti fra carbonato e fosfato non era presente NaCl, e la curva che si può costruire con questi valori di Po_4^{---} fissatonon presenta salti bruschi. La presenza di NaCl rende possibile la formazione di quantità notevoli di $Pb_3\ (Po_4)_2$ a quelle concentrazioni di Na_2Co_3 alle quali, mancando NaCl, non si potrebbe formare fosfato in quantità apprezzabili.

Il precipitato che noi otteniamo in questo caso è amorfo, la sua solubilità è assai scarsa, il filtrato annerisce appena sensibilmente con l'H_2S, ma non reagisce invece con KJ, neppure se il precipitato, prima di filtrarlo, è fatto bollire. Sciolto in HNo_3 si inalba con $AgNo_3$, mostrando di contenere certamente del Cl^-; ma sono tracce, non suscettibili di determinazione analitica quantitativa.

Ripartizione del Pb fra carbonato e fosfato in presenza di NaCl e H_2CO_3.

In un' ultima serie di esperienze, ho fatto variare le concentrazioni del carbonato e del cloruro per una concentrazione fissa di fosfato (gr. n. mol. 0,0040 p. 1000) e di $Pb(No_3)_2$ (gr. n. mol. 0,0060 p. 1000) e in tutte le miscele facevo poi gorgogliare dell' Co_2.

Dosavo nel filtrato il Po_4^{---} e il Cl^- non precipitati col Pb^{++}.

Le quantità di Po_4^{---} fissato come fosfato quando la concentrazione del NaCl era di gr. n. mol. 0,2 p. 1000 sono segnate nella Fig. 3 con ◉ e la linea che unisce questi punti mostra come varii nelle condizioni sperimentali descritte la quantità di $Pb_3\ (Po_4)_2$ che si forma. Come si vede dalla figura, fino alla c. di 200 di carbonato va diminuendo progressivamente il fosfato che si forma, per scendere abbastanza bruscamente a 13 ed arrivare allo 0 per valori di carbonato ai quali, nelle precedenti esperienze, (nelle quali l'$H_2\ CO_3$ e il NaCl non agivano insieme) la quantità di fosfato che si formava era ancora alta.

Questi risultati non sono sensibilmente modificati se alle miscele si aggiungono piccole quantità di $Na_2\ SO_4$, in ragione di gr. n. mol. 0,005 p. 1000 (1) e si diminuisce la concentrazione del NaCl fino a gr. n. mol. 0,1 p. 1000.

Data la complessità delle condizioni di equilibrio che qui vengono a formarsi, preferisco astenermi dall' enunciare delle ipotesi che potrebbero rendere conto di questi varii comportamenti.

STATO CHIMICO DEL Pb NELL' ORGANISMO.

Queste ricerche furono eseguite non con uno scopo teoretico fisico chimico, ma per arguire in quale forma salina e stato fisico si

(1) Solubilità del $PbSo^4$: gr. n. mol. 0,00029 in 1000 cc. a 25°.

trovi verosimilmente il piombo nell' organismo di uno affetto da saturnismo.

È dunque necessario chiedersi a quali rapporti vengano a trovarsi nel plasma e nei tessuti i varî anioni che nelle prove precedenti furono messi in gioco insieme con il Pb, principalmente i carbonati e i fosfati.

Incominciando dal plasma sanguigno è noto che in esso non esistono carbonati neutri, ma l'H_2Co_3 o si trova combinato come $NaHCo_3$ o sciolto come H_2Co_3 o come $^-HCo_3$.

Secondo HENDERSON la concentrazione di bicarbonato oscillerebbe intorno a gr. n. mol. 0,03 p. 1000 cc. (1). I fosfati inorganici che in esso si trovano non sono in quantità costante, ma oscillano intorno a gr. 0,04 p. 1000 cc., cioè a gr. n. mol. 0,004 p. 1000 cc. (2). I cloruri si trovano in concentrazione corrispondente a poco più di gr. n. mol. 0,1 p. 1000 cc.

Ora, se noi esaminiamo nella figura 3 la curva segnata dai punti ⊙ (la quale indica appunto come varia la concentrazione di fosfato di Pb che si forma in una miscela nella quale fosfato e cloruro si trovano entro i valori medi di concentrazione ai quali sono nel sangue), vediamo che per una concentrazione di bicarbonato pari a gr. n. mol. 0,03 p. 1000, quale è nel sangue, la quantità dì $Pb_3(Po_4)_2$ che si forma è piccola, ma tuttavia se ne forma ancora.

Negli altri tessuti, nei quali a preferenza il Pb si fissa, trovandosi i fosfati in quantità maggiore dei carbonati, è inevitabile che il Pb si fissi in grande prevalenza come fosfato trimetallico.

Nei muscoli si trova dieci volte circa più fosfato che bicarbonato (3), cosicchè, per gr. n. mol. di fosfato p. 1000 gr. pari a 0,0040, avremo di bicarbonato gr. n. mol. 0,0004. La questo rapporto, come si vede dalla figura, il Pb si fissa come fosfato trimetallico.

Nel cervello e nelle ossa, i fosfati inorganici eccedono sui carbonati (4). Per il fegato e per il rene non trovo indicata la quantità di carbonato, i fosfati però sono presenti in grande quantità : nel fegato in quantità eguale a quella del cervello e in quantità di poco

---

(1) Citato da VAN SLYKE e CULLEN, *The Journal of Biol. Chemis.*, vol. XXX, 1917, p. 341 s.

(2) FEIGL, *Biochemische Zeits.*, Bd. 83, p. 90; 112, pp. 42-43. La letteratura americana è ricca di dati in questi ultimi anni : più recentemente alcuni autori trovano mmg. P inorganico 3,7 p. 100 di siero cf. *Journ. Biol. Chem.*, 1923, vol. 55, p. XIII (Proceedings). Vedi anche RONDONI, *Biochimica*, 1925, p. 474. I solfati si trovano nel plasma, secondo MEYER-BISCH in quantità corrispondente ad H_2So_4 grm. 0,019 — 0, 042, p. 100 cc. *Biochem. Zeits*, Bd. 150, p. 25 s.

(3) Secondo WACKER l'H_2Co_3 si trova nei muscoli libero o legato come bicarbonato alcalino. Per 100 gr. di muscolo si troverebbero gr. 0,035 di H_2Co_3, pari a gr. n. mol. 0,01, p. 1000 gr circa. *Bioch. Zeits.*, 1917, Bd. 79, p. 126, 121.

I dati relativi al fosforo inorganico sono dati da COSTANTINO, *Bioch. Zeits*, 1912, p. 165 s. p. i muscoli striati. P °/₀₀ 1,30 g. r. ; in gr. n. mol. : 0,13.

(4) Cfr. in HAMMARSTEN, *Lehr. d. physiol. Chemie*, 1910, pp. 582, 524.

inferiore nel rene (1). Anche nei polmoni i fosfati sono assai abbon danti (2).

Riferendoci ai dati raccolti è chiaro che negli organi nei quali il Pb si trova prevalentemente fissato nei saturnici, esso deve esser presente in grande prevalenza come fosfato trimetallico.

CONCLUSIONE.

Per analogia da queste ricerche si può così arguire in quale forma salina si trovi verosimilmente il Pb nell' organismo di un saturnico. Considerando le costanti fisiche dei varî sali di piombo che si possono formare nell' organismo e le azioni di massa, qualunque sia il sale di piombo che si assorbe nel plasma sanguigno, il Pb circola legato prevalentemente ai due anioni carbonico e fosforico, in proporzioni variabili ; secondo le quantità simultaneamente presenti dì fosfato e di carbonato, quantità sempre variabili, particolarmente quella del fosfato.

Alle concentrazioni medie alle quali i due anioni si trovano nel plasma, per quanto i carbonati sieno fortemente eccedenti, una certa quantità di Pb si fissa come fosfato.

Questa quantità di fosfato si accentua dopo l'assorbimento interno, col passaggio e la fissazione negli organi neì quali l'analisi tossicologica rivela il Pb.

Considerando le condizioni di equilibrio che si formano fra plasma e tessuti, poichè in questi ultimi il Pb si trova prevalentemente legato nella sua forma meno solubile ($Pb_3 (PO_4)_2$), nella ripartizione fra plasma e tessuti, il Pb verrà a fissarsi prevalentemente in questi. Infatti, esso si trova in assai scarsa misura nel sangue e ìn minima quantità sciolto nel plasma. Esso circola insomma ad una concentrazione estremamente piccola.

Da queste ricerche è risultata anche la possibilità che nel plasma si formì un sale doppio, un carbofosfato che già per sè stesso in certe condizioni è colloidale e che nel plasma sarebbe più facilmente mantenuto in questo stato per la presenza di colloidi protettori.

Ogni qual volta la quantità di Pb^{++} circolante venga a trovarsi nel plasma in quantità superiore a quella consentita dalla solubilità del fosfato e del carbonato di piombo. è verosimile che si formi un carbofosfato assai poco solubile, colloidale.

---

(1) Cfr. BOTTAZZI, *Chimica fisiologica*, vol. II, p. 335.

(2) Cfr. MAGNUS-LEVY, *Bioch. Zeits.*, Bd. XXIV, p. 380, P_2O_5 0,27 gr. p. 100, pari a gr. n. mol. di P 0,11 par 1000 gr. di polmone.

DALL' ISTITUTO DI FARMACOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PADOVA
DIRETTO DAL PROF. LUIGI SABBATANI.

RICERCHE QUANTITATIVE SULL' ADSORBIMENTO CUTANEO

PER

ARRIGO ANTONIBON.

Quando noi applichiamo un farmaco sulla cute possiamo ammettere teoricamente che conseguano due azioni: una locale, sul luogo di applicazione di questo farmaco, e una generale, dovuta all' assorbimento dello stesso farmaco e al suo conseguente passaggio in circolo. Ambedue queste azioni però dipendono in modo diretto da un fenomeno di adsorbimento che in primo luogo si svolge fra strato corneo dell' epidermide e sostanza medicamentosa. Già da tempo è noto che le sostanze cornee sono dotate di forte potere adsorbente, proprietà questa che viene sfruttata dalla chimica industriale, per esempio nei processi di tintura delle lane; ma mentre i fenomeni di adsorbimento in questo campo sono bene studiati e già si sono dettate leggi generali che esprimono il fenomeno in parola, per quello che riguarda invece lo strato corneo della cute abbiamo solo le esperienze di Quattrini, il quale con ricerche quantitative dimostrò *in vitro* come i peli e la polvere di pelle esercitino una notevole proprietà fissatrice rispetto a varie sostanze medicamentose. Estese poi tali ricerche, ma in questo caso solo qualitativamente, anche sulla cute sana dell' uomo, dimostrando come questa spieghi pure un' azione adsorbente sull' acido cloridrico, sull' ammoniaca e sull' iodio; egli cioè, dopo aver fatto pervenire per un certo tempo direttamente sulla cute dei vapori di queste sostanze, ricercava con i comuni metodi indicatori, per quanto tempo ancora fosse dimostrabile la presenza sulla cute di queste sostanze.

Ora io ho voluto estendere tali ricerche del Quattrini, cercando di ottenere delle determinazioni quantitative onde poter avere dei dati precisi per lo studio del fenomeno di adsorbimento nei riguardi dello strato corneo di cute sana e vivente.

Ho eseguito tali ricerche con quei farmaci che in pratica medica più di frequente vengono adoperati per applicazione percutanea, e

precisamente con cloro, iodio, acido fenico, acido salicilico e acido picrico.

La tecnica che impiegavo era la seguente:

Un vaso di vetro della capacità di circa un litro entro il quale versavo cm³ 500 di soluzione acquosa della sostanza da sperimentare esattamente titolata. Vi immergevo quindi la mano, imprimendole dei leggeri movimenti, in modo che il liquido fosse rimescolato di continuo, e ve la lasciavo per dieci minuti; trascorsi i quali, levavo la mano, rititolavo la soluzione e dalla differenza trovata facilmente risalivo alla quantità assoluta di farmaco fissata dalla mano.

Le esperienze furono eseguite a distanza di almeno 48 ore l'una dall' altra e variando ogni volta la mano; la temperatura ambiente da 12 gradi che era in marzo salì progressivamente fino a 20° circa in maggio.

Ho sperimentato su tutte le sostanze a varie concentrazioni, ottenendo così per ogni sostanza diversi valori che mi dimostrano, in modo abbastanza chiaro l'andamento del fenomeno di adsorbimento.

Esperienze con cloro.

Ho adoperato per queste esperienze dell' acqua di cloro, preparata di recente, a diverse concentrazioni, fino al 3,5 circa per mille, oltre la quale però non ho potuto procedere per l'azione dannosa che a questa concentrazione il cloro cominciava a dare sulla cute. Riporto nella tabella I*a* i valori ottenuti nelle esperienze col cloro. Per la titolazione adoperavo ioduro di potassio e iposolfito sodico.

TABELLA I*a* — CLORO.

N	Concentrazione della soluzione in gr. n. mol. per litro.	Volume della soluzione in cm³	Concentrazione finale in gr. n. mol. per litro.	Quantità di sostanza fissata dalla mano in gr. n. mol.	Valori di C espressi in grammi.	Valori di x espressi in grammi.
	C	V	C_1	$V(C-C_1)=x$	C	x
1	0.0009	500	0.00036	0.00027	0.0329	0.0095
2	0.0018	500	0.00099	0.00041	0.0638	0.0145
3	0.0029	500	0.00150	0.00070	0.1023	0.0248
4	0.0044	500	0.00236	0.00102	0.1560	0.0366
5	0.0099	500	0.00500	0.00245	0.3455	0.0868
6	0.0204	500	0.01150	0.00475	0.7233	0.1684
7	0.0240	500	0.01200	0.00600	0.8510	0.2127
8	0.0307	500	0.01900	0.00585	1.0886	0.2070
9	0.0350	500	0.02130	0.00685	1.2411	0.2429
10	0.0450	500	0.02800	0.00850	1.5957	0.3014
11	0.0550	500	0.03600	0.00950	1.9503	0.3368
12	0.0990	500	0.07100	0.01400	3.5105	0.4964

Da queste esperienze si vede come il cloro venga fissato dalla mano in quantità molto maggiore di quelle sostanze che più avanti sono descritte.

La sua presenza sulla cute poi, rilevata con la salda d'amido iodurata anche dopo 26-28 ore, dimostra come questa sostanza sia fissata in modo tenace.

Se si considera però il forte potere ossidante del cloro, i peli infatti della mano venivano completamente distrutti, si deve pensare che il cloro fissato dalla mano, non sia tutto dovuto ad un semplice processo di adsorbimento, e che quindi i valori ottenuti non corrispondano esattamente ad un puro fenomeno fisico. Siccome però la presenza del cloro sulla cute è rilevabile anche dopo molte ore, solo da questo resta dimostrato, che una parte almeno del cloro viene fissato fisicamente.

Esperienze con iodio.

Ho adoperata la soluzione iodo-iodurata alle seguenti proporzioni: iodio gr. 12,7 e ioduro di potassio gr. 25 per litro. La titolazione era fatta con iposolfito sodico e salda d'amido. Nella tabella II*a* sono riportati i valori ottenuti nelle esperienze con questa sostanza.

TABELLA II*a* — IODIO.

N	Concentrazione della soluzione in gr. n. mol. per litro.	Volume della soluzione in cm^3	Concentrazione finale in gr. n. mol. per litro.	Quantità di sostanza fissata dalla mano in gr. n. mol.	Valori di C espressi in grammi.	Valori di x espressi in grammi.
	C	V	C_1	$V(C-C_1) = x$	C	x
1	0.008	500	0.0066	0.00070	1.0153	0.0888
2	0.017	500	0.0149	0.00105	2.1576	0.1332
3	0.031	500	0.0273	0.00185	5.0762	0.2348
4	0.050	500	0.0457	0.00215	6.3460	0.2728
5	0.084	500	0.0798	0.00210	10.6612	0.2665
6	0.100	500	0.0954	0.00230	12.6920	0.2919
7	0.163	500	0.1579	0.00255	20.6879	0.3236

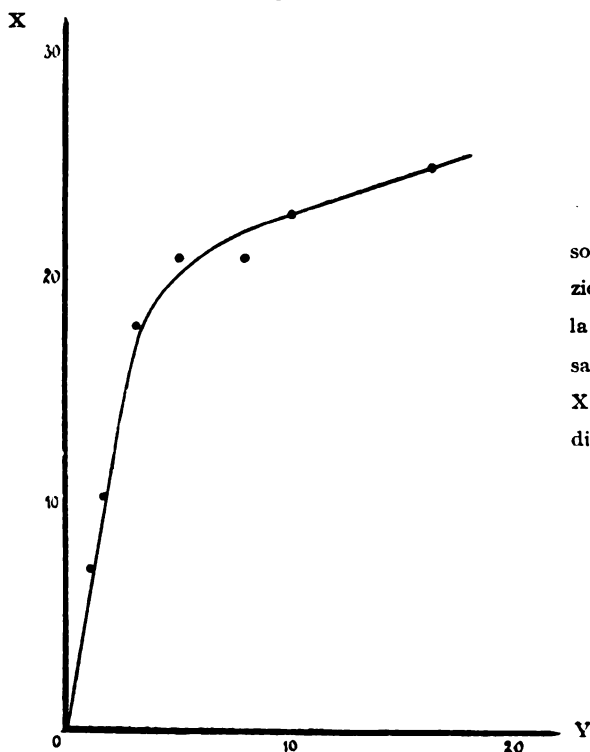
Con l'iodio ho potuto ottenere dei valori anche ad alte concentrazioni, permettendomi così, trascrivendoli in grafica, di tracciare la curva di adsorbimento di questa sostanza.

Dalla fig. n° 1, che riproduce appunto la curva, si vede come questa tenda a portarsi parallelamente all' asse delle ascisse, dimostrando così come in pratica sia inutile applicare sulla cute dell' iodio a concentrazioni superiori a quella in cui i fenomeni di adsorbimento si svolgono già in modo praticamente massimo.

Anche la tenacia di fissazione dell' iodio da parte dello strato corneo dell' epidermide, è molto forte e anche dopo 40 ore, come

dimostrò pure il Quattrini, si può constatare la presenza sulla cute dell' iodio allo stato molecolare, sia dal colore della pelle, che dalla reazione positiva con la salda d'amido, dal colore giallo dell' alcool e violaceo del cloroformio, venuti a contatto con la stessa cute.

Si deve però ripetere anche quì, quello che si è già accennato per il

Fig. 1

Sull' asse delle ascisse sono segnate le concentrazioni, su quella delle ordinate la quantità di sostanza fissata dalla mano. Valori di X = gr. n. mol. × 10^4. Valori di Y = gr. n. mol. × 10^2.

cloro ; che cioè i valori ottenuti non siano del tutto esatti per il potere ossidante dell' iodio. Dato però che l'ossidazione nel caso dell' iodio, si compie in modo molto lento, e dato il tempo breve di immersione, diecì minuti, della mano nella soluzione iodica, si può ammettere che i valori ottenuti in queste ricerche corrispondano meglio di quelli ottenuti per il cloro, ad un fenomeno di adsorbimento che si compie fra strato corneo e iodio stesso.

Esperienze con acido fenico.

Per il dosamento dell' acido fenico ho usato il metodo indicato dal Polacci ; lasciavo cadere cioè su cm_3 100 di soluzione di fenolo, dell' ipobromito sodico, fino a completa saturazione, la quale mi era indicata dalla proprietà che acquista il liquido, di rendere azzurra la carta amido-iodurata.

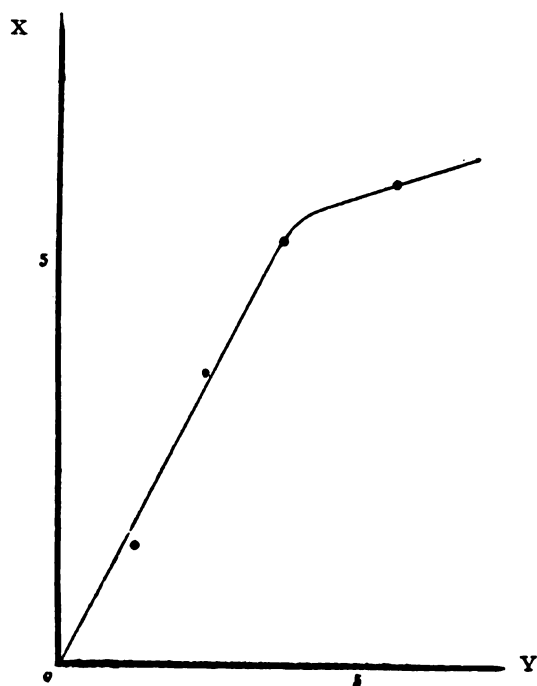
Riporto nella tabella III*a* i valori ottenuti.

TABELLA III*a* — AC. FENICO.

N	Concentrazione della soluzione in gr. n. mol. per litro.	Volume della soluzione in Cm^3	Concentrazione finale in gr. n. mol. per litro.	Quantità di sortanza fissata dalla mano in gr. n. mol.	Valori di C espressi in grammi.	Valori di *x* espressi in grammi
	C	V	C_1	$V(C-C_1)=x$	C.	x
1	0.116	500	0.1132	0.0014	10.9156	0.1317
2	0.237	500	0.2298	0.0036	22.5017	0.3387
3	0.356	500	0.3454	0.0053	33.4996	1.4987
4	0.545	500	0.5330	0.0060	51.2845	0.6546

Trascrivendo in grafica questi valori, ottengo la curva di adsorbimento, fig. n° 2, dell' acido fenico, curva che è molto analoga a quella dell' iodio.

Anche l'acido fenico è tenacemente fissato dalla cute, e ancora dopo 24 ore, se ne dimostra la presenza sulla cute, con la reazione al cloruro ferrico, nonostante che la mano fosse, come di abitudine, sottoposta ai lavaggi giornalieri.

Fig. 2.

Sull' asse delle ascisse sono segnate le concentrazioni, su quella delle ordinate la quantità di sostanza fissata della mano
Valori di X = gr. n. mol. × 10^3
Valori di Y = gr. n. mol. × 10^1

La sicurezza che l'acido fenico viene assorbito dalla cute, può far dubitare che i valori ottenuti in queste esperienze, includano anche la quantità eventuale di fenolo passata in circolo; poichè però ottengo valori eguali anche se l'immersione della mano è durata 15 minuti, invece di 10, si può credere che se anche avviene un assorbimento questo sia così lento, da non disturbarmi affatto lo studio del fenomeno di adsorbimento.

Esperienze con acido salicilico.

Il dosaggio dell' acido salicilico era eseguito con idrato sodico.

La tabella IV*a* riproduce i valori ottenuti con questo acido.

TABELLA IV*a* — AC. SALICILICO.

N	Concentrazione della soluzione in gr. n. mol. per litro.	Volume della soluzione in Cm^3	Concentrazione finale in gr. n. mol per litro.	Quantità di sostanza fissata dalla mano in gr. n. mol.	Valori di C espressi in grammi.	Valori di *x* espressi in grammi.
	c	V	c_1	$V(c-c_1)=x$	C	*x*
1	0.00570	500	0.00526	0.000220	0.7871	0.0303
2	0.00697	500	0.00638	0.000260	0.9625	0.0359
3	0.01120	500	0.01035	0.000425	1.5467	0.0586

Dai valori sopra riportati si vede come anche questo acido sia fissato in quantità abbastanza notevole dallo strato corneo della mano; non ho potuto però proseguire nelle esperienze, data la poca solubilità dell' acido salicilico in acqua, alla temperatura ambiente; inoltre anche il suo potere cheratolitico mi avrebbe impedito di procedere nelle ricerche, a più alte concentrazioni.

Esperienze con acido picrico.

Anche con l'acido picrico ho usato, per la titolazione, idrato sodico, ottenendo i valori, esposti nella tabella V, che dimostrano come quest' acido sia molto meno adsorbito delle altre sostanze.

Anche in questo caso la solubilità limitata dell' acido picrico, non ha permesso di eseguire esperienze a concentrazioni più alte.

TABELLA V*a* — AC. PICRICO.

N	Concentrazione della soluzione in gr. n. mol. per litro.	Volume della soluzione in cm^3	Concentrazione finale in gr. n. mol. per litro.	Quantità di sostanza fissata dalla mano in gr. n. mol.	Valori di C espressi in grammi.	Valori di x espressi in grammi.
	C	V	C_1	$V(C-C_1)=x$	C	x
1	0.0024	500	0.00223	0.000083	0.5497	0.0190
2	0.0043	500	0.00407	0.000115	0.9849	0.0263
3	0.0087	500	0.00841	0.000145	1.9927	0.0332

CONCLUSIONI.

Si può senz' altro affermare, che come tutte le sostanze cornee in generale, anche lo strato corneo della cute sana dell' uomo, ha proprietà adsorbenti notevoli, rispetto alle soluzioni acquose di cloro, iodio, acido fenico, ac. salicilico e ac. picrico.

Raffrontando infatti le curve ottenute, con quelle del Quattrini fatte *in vitro*, si vede come ci troviamo di fronte ad un vero fenomeno di adsorbimento, e come questo segua un certo andamento, di cui però non si possono dare ancora regole generali, perchè nell' adsorbimento cutaneo entrano in gioco molteplici cause di errore, che non sono facilmente valutabili.

L'estendere quindi queste ricerche anche su altre sostanza medicamentose, può essere di qualche utilità per la medicina pratica, onde poter stabilire la concentrazione del farmaco, alla quale il fenomeno di adsorbimento, e di conseguenza l'azione curativa,si svolga nel modo migliore.

BIBLIOGRAFIA.

QUATTRINI MARIO. — Fenomeni chimico-fisici di adsorbimento che intervengono nell' applicazione percutanea dei farmaci. — *Giorn. ital. delle Malattie Veneree e della Pelle.* — Fasc. III, 1914.

POLACCI EGIDIO. — *Trattato di chimica medico-farmaceutica,* p. II, pag. 676. Milano 1892.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE DE L'UNIVERSITÉ DE GAND.

DIRECTEUR : J. F. HEYMANS.

INFLUENCE DU SOMNIFÈNE SUR L'ÉLIMINATION CARBONIQUE, LE VOLUME RESPIRATOIRE ET LA TEMPÉRATURE DU LAPIN

PAR

J. J. BOUCKAERT.

L'action générale des hypnotiques, comme celle des anesthésiques, a donné lieu à d'innombrables recherches : on peut s'en rendre compte en consultant l'article du dictionnaire de Physiologie : *Anesthésie et Anesthésiques* de CH. RICHET (17) et les monographies de VERWORN (22), de BRUNN (6) et de WINTERSTEIN (25). Néanmoins, l'action de ces hypnotiques sur le métabolisme respiratoire est encore imparfaitement connue. Les expérimentateurs qui se sont précédemment occupés de ces questions, notamment P. BERT (5), ARLOING (3), DE SAINT MARTIN (8), RUMPF (18), PALIS (15) et VIDAL (23) ont dû, à cause de la technique employée, se contenter d un dosage soit très espacé, soit global, du CO^2 expiré par l'animal. Cependant, les déterminations pendant l'hypnose, du volume respiratoire et de l'acide carbonique éliminé, ont une grande importance : elles permettent de suivre pas à pas les modifications métaboliques qui se produisent au sein de l'organisme ; tout changement fonctionnel des systèmes nerveux, musculaire, respiratoire, circulatoire, digestif et glandulaire, a, en effet, sa répercussion sur l'élimination carbonique respiratoire.

Une technique qui permet de déterminer de façon continue l'élimination carbonique et le volume respiratoire, a été décrite par J. F. HEYMANS (11) et C. HEYMANS (12) ; elle a déjà servi à une étude au sujet de l'action de plusieurs anesthésiques et hypnotiques sur le volume respiratoire et l'élimination carbonique (13).

Parmi les nombreux dérivés de l'acide barbiturique ou malonylurée, doués de propriétés hypnotiques, il n'y en avait guère que trois qui jouissaient, jusqu'il y a quelque temps, d'un usage plus ou moins courant en clinique : l'acide diéthylbarbiturique (Véronal), l'acide diallylbarbiturique (Dial), et l'acide éthylphénylbarbiturique (Luminal ou Gardénal).

Ces hypnotiques s'administrent sous forme d'acides ou sous forme de leurs sels sodiques : dans ce dernier cas, ainsi que le fait observer REDONNET (1), l'hydrolyse qui s'opère très rapidement en présence d'eau, régénère virtuellement l'acide ; celui-ci est donc, dans tous les cas, le principe actif. Ces trois acides sont très peu solubles ; de là, absorption lente et action tardive, mais aussi, élimination lente et action prolongée.

A ces dérivés insolubles est venu se joindre, il y a peu de temps, l'acide isopropylpropénylbarbiturique, qui, associé à l'acide diéthylbarbiturique (Véronal), et solubilisé par la diéthylamine, constitue une association hypnotique soluble et injectable, connue sous le nom de Somnifène.

D'après les renseignements fournis par la Maison HOFFMANN-LAROCHE, le Somnifène contient par ccm. :

Acide diéthylbarbiturique	0,10 gr.
Acide isopropylpropénylbarbiturique	0,10 gr.
p. amino benzoyldiéthylamino-aethanol hydrochl. . .	0,007 gr.
Diéthylamine. — Glycérine.	
Alcool. — Eau.	

Au sujet de l'action du Somnifène chez les animaux, nous renvoyons aux travaux de TAPERNOUX (19) et à ceux, tout récents, de TH. ALDAY-REDONNET (2). Son emploi en clinique a déjà fait l'objet de nombreuses publications : signalons celles de PERLIS (16), CLEISZ (7), WEYMEERSCH, POULAIN et WODON (24), BARDET (4) et FREDET (10) et dernièrement encore celles de LEDOUX (14) et de VAN ACKER (21).

Le Somnifène n'a pas seulement été préconisé comme simple hypnotique per os, on a également eu recours en obstétrique et en chirurgie, aux injections intraveineuses, capables de provoquer l'anesthésie générale. Ces derniers modes d'emploi présentent cependant des inconvénients : la narcose persiste longtemps, et on a observé dans certains cas, de l'agitation, du nystagmus, des troubles oculaires, de l'ictère, etc....

Le Somnifène paraissant être ainsi, d'après les études expérimentales de différents auteurs et son usage clinique déjà répandu, un hypnotique intéressant à divers points de vue, nous

avons voulu étendre son étude expérimentale, principalement au point de vue de son action sur les échanges respiratoires.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

A. — *Action hypnotique et narcotique chez le lapin.*

Les doses administrées en injections intraveineuses chez le lapin, ont varié entre 0,05 et 0,8 ccm. (soit 1 et 16 ctgr. de principes actifs par kgr.). Une dose de 0,05 ccm. déprime légèrement le lapin : celui-ci se laisse manipuler plus facilement, mais on n'observe peu ou pas de diminution de la sensibilité. Avec 0,1 ccm. (2 ctgr. principes actifs) la sensibilité semble légèrement atteinte, de plus, le lapin se déplace peu spontanément ; avec une dose de 0,15 ccm. (3 ctgr. principes actifs), le lapin se couche ; 0,2 ccm. (4 ctgr. principes actifs) produisent une diminution appréciable de la sensibilité ; le lapin est étendu sur le côté, le réflexe cornéen persiste. Des doses de 0,3–0,4 ccm. (6–8 ctgr. principes actifs) provoquent une hypnose profonde ; l'injection de 0,5–0,8 ccm. (10–16 ctgr. principes actifs) produit immédiatement une narcose complète : le réflexe cornéen disparaît, le relâchement musculaire est total, la sensibilité est abolie.

B. — *Elimination carbonique pendant l'hypnose et la narcose.*

L'élimination carbonique a été dosée après injection intraveineuse de 0,05, 0,1, 0,15, 0,2, 0,3, 0,4, 0,5, 0,8 ccm. sommifène par Kgr. soit respectivement 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 et 16 ctgr. de substances actives.

Les expériences effectuées sont au nombre de 24 : nous reproduisons ci-dessous les protocoles de trois d'entre elles, se rapportant à des doses de 0,1, 0,2, et 0,5 ccm. de somnifène par kgr.

Ci-dessous le texte explicatif des tableaux d'expériences :

N° D	=	Numéro des dosages.
T	=	heure, minutes et secondes.
T'	=	durée en minutes et secondes entre chaque dosage.
V R	=	Volume respiratoire pendant T'.
VCO_2	=	Volume carbonique pendant T'.
VR 1'	=	» respiratoire pendant une minute.
VCO_2 1'	=	» carbonique pendant une minute.
VR 1' kgr.	=	» respiratoire par minute et par kilogramme.
VCO_2 1' kgr.	=	» carbonique par minute et par kilogramme.
T°	=	Température rectale de l'animal.
R. C.	=	Réflexe cornéen.
R.	=	fréquence respiratoire.

Exp. 22. — **Lapin N° 31. — Poids** 1.970 **Kgr.**

N° D.	T	T'	V R	VCO_2	VCO^2 1'	VCO^2 1' Kgr.	VR 1'	VR 1' Kgr.	T°	REMARQUES.
	15 h. 57'37									
1	16 h. 6'30"	8'53"	8.950	148	16.6	8.4	1.000	0.50		
2	» 14'15"	7'45"	6.950	120	15.4	7.8	0.890	0.45		
3	» 17'52"	3'37"	2.950	79	21.8	11.0	0.81	0.41		
4	» 22'13"	4'21"	2.250	69	15.8	8.0	0.51	0.25		
5	» 27'43"	5'30"	3.950	88	16.0	8.1	0.72	0.36		Injection intraveineuse de 0,2 ccm. somnifène.
6	» 33'12"	5'29"	3.750	92	16.7	8.4	0.68	0.34		R = 55
7	» 38'44"	5'32"	5.100	102	18.4	9.3	0.92	0.46		Sensibilité semble légèrement diminuée
8	» 44'15"	5'31"	4.250	99	17.9	9.0	0.77	0.39		R = 50
9	» 49'48"	5'33"	4.100	88	15.8	8.0	0.73	0.37		
10	» 55'24"	5'36"	4.000	83	14.8	7.5	0.71	0.36		
11	17 h. 57"	5'33"	4.050	102	18.3	9.2	0.73	0.37		R = 48, RC +, sensibilité semble légèrement diminuée
12	» 6'35"	5'38"	4.050	97	17.2	8.7	0.72	0.36		
13	» 12'10"	5'35"	3.900	97	17.4	8.8	0.69	0.35		
14	» 17'52"	5'42"	4.050	90	15.8	8.0	0.71	0.36		
15	» 23'23"	5'31"	4.600	111	20.0	10.0	0.85	0.42		
16	» 28'54"	5'31"	4.150	102	18.4	9.3	0.75	0.38		
17	» 34'28"	5'34"	4.000	90	16.0	8.1	0.71	0.36		R = 48
18	» 39'57"	5'29"	4.000	104	19.0	9.6	0.73	0.37		
19	» 45'28"	5'31"	4.000	97	17.6	8.9	0.72	0.36		
20	» 51' 3"	5'35"	4.000	88	15.7	7.9	0.71	0.36		
21	» 56'33"	5'30"	3.850	92	16.7	8.4	0.70	0.35		R = 48
22	18 h. 2' 3"	5'30"	3.800	88	16.0	8.1	0.69	0.35		
23	» 7'33"	5'30"	3.850	88	16.0	8.1	0.70	0.35	38°5	

A la dose de 0,1 cm³, soit 2 ctgr. de principes actifs de Somnifène par Kg., l'élimination carbonique ne diminue nullement (cfr. colonne VCO_2 1' Kgr.) Le volume respiratoire (colonne VR 1' Kgr.), ne présente aucune diminution sous l'influence de la dose injectée ; la température était encore normale, (38°5) 1 heure 40 minutes environ après l'injection de Somnifène.

Exp. 21. — Lapin 19. — Poids : 2.130 Kgr.

N° D.	T	T′	V R	VCO_2	VCO_2 1′	VCO_2 1′ Kgr.	VR 1′	VR 1′ Kgr.	T°	REMARQUES.
	15 h. 13′15″									
1	» 18′53″	5′38″	5.350	146	26.0	12.2	0.94	0.44		R = 60
2	» 24′44″	5′51″	5.550	118	20.0	9.4	0.94	0.44		Quelques mouvements.
3	» 30′39″	5′55″	6.000	125	21.0	9.8	1.00	0.46		
										Injection intraveineuse de 0,45 ccm. somnifène.
4	15h. 36′38″	5′59″	5.350	116	19.4	9.1	0.90	0.42		
5	» 42′35″	5′57″	3.900	106	17.8	8.3	0.65	0.30		R = 48 RC + tête couchée sur le côté.
6	» 48′23″	5′48″	3.150	111	19.1	8.9	0.54	0.25		R = 42
7	» 54′22″	5′59″	2.800	106	17.6	8.2	0.47	0.22		R = 40
8	16 h. 19″	5′57″	2.600	101	16.9	7.9	0.43	0.20		R = 40 ; RC + sensibilité diminuée
9	» 6′30″	6′11″	2.450	92	14.9	7.0	0.39	0.18		R = 42
10	» 12′31″	6′ 1″	0.850	65	10.8	5.0	0.14	0.46		R = 38
11	» 18′29″	5′58″	1.750	95	15.9	7.4	0.29	0.13		R = 34 ; RC +
12	» 24′30″	6′ 1″	1.600	92	15.2	7.1	0.26	0.12		R = 31
13	» 30′35″	6′ 3″	2.100	92	15.2	7.1	0.34	0.15		R = 32, sensibilité diminuée.
14	» 36′33″	5′58″	2.100	95	15.8	7.4	0.35	0.16		R = 36
15	» 42′38″	6′ 5″	1.900	92	15.1	7.0	0.31	0.14		R = 35 ; RC +
16	» 48′40″	6′ 2″	1.650	88	14.5	6.8	0.27	0.12		R = 34
17	» 54′44″	6′ 4″	0.700	60	9.7	4.5	0.11	0.05		R = 23
18	17h. 48″	6′ 4″	0.800	74	12.4	5.8	0.13	0.06		R = 24
19	» 7′ 6″	6′18″	0.840	60	9.5	4.4	0.13	0.06		R = 20
20	» 13′ 8″	6′ 2″	0.810	60	9.9	4.6	0.13	0.06	35°8	R = 20 ; RC + Détaché, le lapin reste couché sur le côté.

A la dose de 0,2 ccm. (4 ctgr. de principes actifs) par Kg., l'élimination carbonique (colonne $VCO_2$1'Kgr.) diminue rapidement. Après 1 heure 45 minutes, la diminution atteint 50 % ; le volume et la fréquence respiratoire diminuent parallèlement ; la température, à la fin de l'expérience, est tombée à 35°8.

Exp. 7. — Lapin n° 7. — Poids : 1.950 Kgr.

N° D.	T	T'	V R	VCO_2	VCO_2 1'	VCO_2 1' Kgr.	VR 1'	VR 1' Kgr.	T°	REMARQUES.
	15 h. 48'43"									
34	» 43'52"	2' 9"								R = 48
35	» 46'14"	2'22"	1.115	46.2	19.1	9.9	0.46	0.23	37°5	
36	» 48'48"	2'34"	1.600	43.5	16.9	9.65	0.62	0.35		Inject. intra-veineuse de 0.9 ccm. somnif.
37	» 51'20"	2'32"	1.250	35.5	14.0	8.0	0.49	0.28	37°4	R = 36
38	» 53'53"	2'33"	1.050	36.	14.2	8.1	0.405	0.23	37°35	RC diminué-insensibilité.
39	» 56'27"	2'34"	0.950	27.2	10.2	6.0	0.37	0.21		R = 36
40	» 58'58"	2'31"	0.800	19.1	7.6	4.3	0.31	0.17	37°15	RC très faible.
41	16 h. 1'39"	2'41"	0.800	27.2	10.5	6.0	0.298	0.17	37°05	R = 30
42	» 4'14"	2'35"	0.850	21.7	8.45	4.8	0.328	0.18	36°95	
43	» 6'51"	2'37"	0.650	21.7	8.3	4.73	0.248	0.14	36°85	
44	» 9'27"	2'36"	0.600	19.1	7.4	4.24	0.231	0.13	36°85	R = 28 RC —
45	» 12'16"	2'49"	0.575	19.1	6.8	3.9	0.204	0.11	36°75	
46	» 14'52"	2'36"	0.500	19.1	7.4	4.24	0.193	0.11	36°65	
47	» 17'36"	2'44"	0.475	19.1	7.	4.0	0.171	0.097	36°55	R = 24
48	» 20' 7"	2'31"	0.475	16.3	6.5	3.71	0.188	0.10	36°45	
49	» 22'46"	2'39"	0.475	16.3	6.15	3.51	0.179	0.10	36°35	R = 24
50	» 25'28"	2'42"	0.475	19.1	7.4	4.24	0.182	0.10	36°25	
51	» 28' 4"	2'36"	0.450	19.1	7.0	4.0	0.16	0.091	36°15	
52	» 30'40"	2'36"	0.450	10.4	4.0	2.28	0.17	0.097	36°05	R = 24
53	» 36' 2"	5'22"	0.875	11.0	7.56	4.32	0.163	0.093	35°85	R = 24
54	» 41'28"	5'25"	0.675	8.15	1.5	0.859	0.124	0.071	35°6	
55	» 46'49"	5'21"	0.375				0.07	0.040	35°2	
56	» 52' 3"	5'14"	0.175				0.034	0.019		Mort du lapin.

La dose de 0,5 ccm. de Somnifène par Kgr. (10 ctgr. principes actifs) provoque une narcose très accentuée ; l'élimination carbonique diminue progressivement jusqu'à la mort ; le volume et la fréquence respiratoires diminuent parallèlement à l'élimination carbonique ; la température est descendue jusque 35°2, après une narcose de 2 heures environ.

Nous voyons donc que sous l'influence de fortes doses de Somnifène, les phénomènes de combustion diminuent et que la température rectale de l'animal s'abaisse. Cette diminution des combustions est-elle l'effet primaire du Somnifène? Ou est-elle conséquence de l'hypothermie ?

L'expérience suivante nous paraît intéressante à ce point de vue :

Lapin nº 3, poids 2.100 Kgr. reçoit en injection intraveineuse, 0,8 ccm. Somnifène par Kgr. (16 ctgr. principes actifs). Température maintenue constante à 38º environ, au moyen d'un coussin électrique règlable.

Malgré la température maintenue constante à 38º, l'élimination carbonique et le volume respiratoire diminuent rapidement après l'injection, la diminution atteignant 50 %.

Le Somnifène, à forte dose, abaisse donc par lui-même la production calorique.

CONCLUSION.

1º Chez le lapin le Somnifène est un hypnotique à action rapide et prolongée. Les doses de 0,05 et 0,1 ccm. de Somnifène par Kgr. produisent une narcose légère ; elles ne diminuent pas l'élimination carbonique et ne donnent aucune dépression du volume respiratoire.

2º Les doses de 0,2 à 0,4 ccm. par Kgr. produisent une narcose profonde, mais abaissent de 15 à 50 % l'élimination carbonique ; elles réduisent notablement le volume et la fréquence respiratoire.

3º Les doses de 0,4–0,5 ccm. par Kgr. capables de provoquer chez le lapin une anesthésie complète, s'accompagnent d'une diminution de l'élimination carbonique atteignant 70 %, et d'une réduction considérable du volume et de la fréquence respiratoire.

4º L'action hypothermisante, peu prononcée aux doses hypnotiques, plus importante aux doses moyennes, devient très prononcée aux doses fortement narcotiques. Cette action hypothermisante est le résultat d'une action directe dépressive sur le métabolisme.

BIBLIOGRAPHIE.

1. ALDAY-REDONNET : *Arch. intern. Pharm. et Thérap.* 1921, XXV, 26.

2. ALDAY-REDONNET : *Idem.* 1925, Vol. p.

3. ARLOING : cfr. A. DASTRE : *Les anesthésiques,* Paris, Masson, 1890.

4. BARDET : *Bullet. gén. de Thérap.,* 1921, tome 172, p. 173-205.

5. P. BERT : Cfr. A. DASTRE : *Les anesthésiques.*

6. BRÜM : Die allgemeine Narkose, *Neue Deutsche Chirurgie,* 1913, p. 5, F. Enke, Stuttgart.

7. CLEISZ : *Presse Médic.,* 17 décembre 1924, n° 101, p. 1001.

8. DE SAINT-MARTIN : Influence du sommeil naturel ou provoqué sur l'activité des combustions respiratoires. *C. R. Ac. Scienc.,* 1877, p. 1124.

9. ELLIS : *Journ. of exper. Pharmacology and Therapeutics,* vol. 21, 1923, p. 323.

10. FREDET : *Bull. et mém. de la Soc. Nationale de Chirurgie,* tome L, n° 21, p. 789.

11. J. F. HEYMANS : *Arch. intern. de Pharm. et Thérap.,* 1921, XXV, 1.

12. J. F. HEYMANS : *Idem,* 1922, XXVI, 443.

13. C. HEYMANS : *Idem,* 1921, XXV, 493.

14. LEDOUX : *Bruxelles Médical,* n° 16, 15 février 1925, p. 546.

15. PALIS : Action physiologique du Chloroforme : *Thèse de Paris,* 1885.

16. PERLIS : *Presse Méd.,* 13 août 1924, n° 65, p. 675.

17. RICHET : *Dictionnaire de physiologie,* 1895, vol. I, p. 313.

18. RUMPF : *Pflügers Arch.,* 1884, Bd. 33, p. 538.

19. TAPERNOUX : *Bul. de la Soc. des Vétérinaires,* 1923, n° 6.

20. TIFFENEAU : *Bul. gén. Thérap.,* 1924, tome 175, n° 7.

21. VAN ACKER : *Vl. Geneeskundig Tijdschrift,* 1925, p. 148.

22. VERWORN : *Die Narkose,* Fischer, Iena 1914.

23. VIDAL : Influence de l'anesthésie chloroformique sur les phén. chim. de l'organisme, *Thèse de Paris,* 1897.

24. WEYMEERSCH, POULAIN et WODON : *Bruxelles médical,* 18 jan. 1925, n° 12, p. 420.

25. WINTERSTEIN : *Die Narkose,* J. Springer, Berlin.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN, DIRECTEUR M. IDE.

CHLORURE D'ÉTHYLE SUIVI DE CHLOROFORME OU D'ÉTHER

PAR

le Dr. LÉO DECKERS.

Ces expériences constituent une simple extension des dernières expériences de notre premier mémoire (1), celles où nous poursuivions l'effet du chloroforme suivi d'éther, et inversément.

Ici nous nous occuperons de l'administration du *chlorure d'éthyle* précédant celle des grands narcotiques, combinaison souvent employée par certains chirurgiens.

Notre but n'est pas de faire la critique de cette méthode au point de vue de ses applications chirurgicales: elle peut avoir des avantages que nous ne pouvons juger. Nous n'avons pour but que de voir si l'inhalation préalable de chlorure d'éthyle *change le taux ultérieur* du chloroforme ou de l'éther, question purement théorique.

Pour rester toutefois dans les zones d'application pratique, il faut réduire l'administration de chlorure d'éthyle à la durée nécessaire pour obtenir une anesthésie profonde et transitoire.

L'expérience chirurgicale a montré que le maintien ou la répétition des doses de chlorure d'éthyle donnait lieu à des accidents : il se produit de l'agitation et après 20 minutes des morts ont été signalées.

Il serait superflu d'étudier une méthode condamnée d'avance. C'est la *courte et unique* inhalation au chlorure d'éthyle qui est prônée comme facilitant la chloroformisation ultérieure. C'est donc elle que nous appliquerons ici.

Nous avons renoncé à l'inhalation d'une athmosphère dosée de chlorure d'éthyle comme P. BERT l'a fait.

Nos installations auraient dû être profondément modifiées pour réaliser ce détail. Il nous importait seulement 1° d'atteindre une

(1) *Arch. int. de pharm.* T. 30, 1925.

narcose au chlorure d'éthyle, puis surtout 2° de mesurer l'athmosphère de chloroforme ou d'éther, nécessaire à la narcose subséquente.

Et dans cette mesure, il nous suffisait d'abord de déterminer quelle charge de chloroforme serait nécessaire durant les *premières* 20 minutes après la fin de l'administration du chlorure d'éthyle. Si l'influence du chlorure d'éthyle n'est pas manifeste durant ce premier laps de temps, il serait bien illusoire d'en chercher encore une plus tard. Aussi nous n'avons pas à prolonger l'inhalation de chloroforme ou d'éther au delà de 30 à 50 minutes.

Dans ces expériences, le lapin est donc endormi au chlorure d'éthyle sur une table d'opération, et non dans une athmosphère close. Un tampon d'ouate entièrement imbibé de chlorure d'éthyle lui est offert dans un masque approprié de façon à le soumettre à des vapeurs denses ; l'animal est observé jusqu'à ce qu'il ait perdu le réflexe cornéen et toute réaction aux excitations extérieures. Cela prend 1 à 2 minutes.

Le lapin est alors placé, sans perte de temps, dans le réservoir à inhalation et aussitôt une charge de chloroforme ou d'éther est dégagée dans la cage. Cette manœuvre depuis la fin de l'inhalation de chlorure jusqu'à la répartition uniforme du chloroforme ou d'éther ne prend pas plus de 1 à 2 minutes.

Les *signes* adoptés ici ont la même signification que dans notre premier mémoire :

—— l'animal cherche à se redresser ;

— il réagit défensivement à toutes les ecxitations, tout en restant couché ;

± il réagit légèrement au pincement violent des orteils, le réflexe cornéen est faible ou douteux ; l'animal est presque opérable.

\+ le réflexe cornéen est aboli ; le pincement en masse des orteils d'une patte postérieure, accompagné d'extension vive de la patte, reste sans réaction défensive ;

\+ + l'animal est en danger imminent ; il y a du tirage respiratoire, et il faut lui rendre l'air pur, si on veut le sauver encore.

Nous avons remplacé le pincement du pavillon de l'oreille, par le pincement brutal des orteils d'une patte postérieure, au moyen d'une grosse pince de chimiste et tout en pinçant on étend brusquement la patte par traction. Pour peu que l'animal soit encore sensible, on lui sent faire un mouvement pour retirer la patte : cette intervention douloureuse nous semble plus fidèle que le pincement de l'oreille, surtout si le contrôle doit se répéter souvent. C'est la manœuvre douloureuse la plus vive que nous ayons trouvée, sans blesser l'animal.

Les *doses* sont calculées en grammes par 100 litres d'air et introduites dans les mêmes réservoirs que dans notre premier mémoire.

Les résultats des expériences sont assez faciles à représenter, sans recourir à des graphiques. Il suffit de voir *si des doses de chloroforme*

ou d'éther un peu inférieures aux doses normales narcotiseront un animal déjà soumis au chlorure d'éthyle.

Après quelques tâtonnements nous sommes arrivés aux expériences suivantes qui donnèrent des résultats tous concordants.

I. — Chlorure d'éthyle suivi de chloroforme.

Exp 1. — Lapin anesthésié à la dose massive de chlorure d'éthyle est soumis aux doses suivantes de *chloroforme*, avec les résultats indiqués.

Temps en minutes	5	10	15	20	25	30	35	40
État de l'animal	.	.	—	.	.	.	.	——
Chloroforme %	11	11	11	7	7	7	7	7

Exp. 2. — Même préparation.

Temps en minutes	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
État de l'animal	.	.	.	.	±	.	+	.	.	—
Chloroforme %	9	9	9	9	9	9	9	6	6	6

On voit dans exp. 1, que 11 gr. de chloroforme % est insuffisant même après 15 min.

Dans exp. 2., du chloroforme à 9 gr. % durant 35 minutes devient suffisant, mais en abaissant alors la dose à 6 gr. l'animal se réveille.

Il faut mettre l'animal à 15 gr. durant 5 minutes, puis à 10 gr. durant 10 minutes pour obtenir une narcose suffisante ; or c'est la dose nécessaire à un animal frais, non préparé au chlorure d'éthyle comme le montrent les graphiques 5, 6 et 7, page 244 de notre premier mémoire. Nous croyons superflu de répéter ici l'exposé de pareilles expériences : le chlorure d'éthyle ne change pas les doses nécessaires du début.

II. — Chlorure d'éthyle suivi d'éther.

Exp. 3. — Lapin anesthésié au chlorure d'éthyle est soumis à l'éther.

Minutes :	5	10	15	20	25	30	35	40
Effet		—				+		±
Éther en grammes pour 100 litres	15	15	30	30	30	30	15	15

Exp. 4. — Mêmes influences, chlorure d'éthyle suivi d'éther.

Minutes	5	10	15	20	25	30	40	50
Effet :		+				±		—
% d'éther :	40	40	15	15	15	15	15	15

Dans 3, abstraction faite des 10 premières minutes où l'animal est mis à 15 gr. d'éther, il faut ensuite 20 minutes de 30 gr d'éther pour avoir l'état opérable.

Dans 4, 40 gr. d'éther agissent normalement ; mais l'espoir qu'après ce début on pourrait descendre à un taux plus bas que d'ordinaire est déçu, l'animal tend vers le réveil.

Pour conduire la narcose, il faut au moins suivre le schéma C, ou E reproduit page 240 et 241 de notre premier mémoire.

CONCLUSION.

Le résultat de ces expériences est net, les doses de chloroforme ou d'éther nécessaires après le chlorure d'éthyle ne diffèrent pas appréciablement de celles qui seraient nécessaires s'il n'y avait pas eu d'administration préalable de chlorure d'éthyle. Ni immédiatement, ni après 15 à 30 minutes on ne perçoit d'allégement de la dose du grand narcotique.

En tout cas il n'y a ici rien de comparable à ce qui se produit quand l'éther vient remplacer le chloroforme comme p. 246 de notre premier mémoire.

Le chlorure d'éthyle a donc des effets fugitifs et son influence cérébrale ne semble guère profitable à la narcose subséquente qu'elle soit chloroformique ou éthérée.

Ces expériences faites exclusivement sur le lapin n'impliquent pas de conclusions définitives pour l'homme : elles les rendent plausibles seulement. Elles ne disent rien non plus sur l'effet que le chlorure d'éthyle peut exercer soit sur les désagréments des toutes premières inspirations, soit sur le stade d'excitation du chloroforme. Toutefois de pareils résultats pour le lapin ne parlent pas en faveur d'un optimisme chirurgical trop accentué.

Pour nous, il importait de voir si le chlorure d'éthyle initial aurait des avantages palpables dans la narcose chloroformique ou éthérée, et cela n'existe certainement pas.

TRAVAIL DU LABORATOIRE DE PHARMACODYNAMIE DE L'UNIVERSITÉ DE LOUVAIN. DIRECTEUR M. IDE.

INFLUENCE DU VOLUME RESPIRATOIRE SUR LA NARCOSE

PAR

LÉO DECKERS.

Introduction.

Dans un précédent travail (19) nous avons vu d'abord que l'atmosphère *nécessaire et utile* pour la narcose doit graduellement devenir de plus en plus pauvre en chloroforme ou en éther, *à mesure que la durée de la narcose se prolonge*. Contrairement aux affirmations de P. BERT, la charge en narcotique doit être réduite :

	pour le chlorof.	pr. l'éther
après une demi heure de narcose	à 50 %	à 50 %
après une heure	à 40 %	à 35 %
après une heure et demi	à 30 %	à 25 %

Comme corollaire, nous avons combiné les deux narcotiques en commençant par le chloroforme, puis en remplaçant celui-ci par l'éther, et inversément. Nous avons vu alors l'énorme influence d'un début au chloroforme sur la dose consécutive d'éther, et un peu moins d'influence de l'éther suivi du chloroforme.

Après 30 min. de chloroforme, le 1/4 de la dose d'éther suffit.

Après 30 min. d'éther, il faut la 1/2 dose de chloroforme.

L'ensemble de ces faits doit nous faire abandonner la conception de DASTRE, selon lequelles narcotiques agissent proportionnellement à leur tension gazeuse dans les tissus nerveux. Chaque imprégnation par le narcotique rend les cellules malades pour quelque temps, et les doses doivent devenir de plus en plus légères, à mesure qu'on les répète.

Dès lors on peut se demander si l'administration préalable d'autres poisons insensibilisants tels que chlorure d'éthyle, morphine ou chloral, n'agira pas dans le même sens.

Ce fut là le point de départ de ces nouvelles expériences, et c'était en somme la suite à notre premier mémoire. Mais les faits observés nous mirent devant une toute autre question de doctrine, question qui nous paraît maintenant avoir bien plus d'intérêt.

HISTORIQUE.

La combinaison des narcotiques est un sujet déjà très ancien en chirurgie; celle de la morphine avec le chloroforme fut déjà pronée par CLAUDE BERNARD et selon O. STANGE (10), NUSSBAUM fut en Allemagne le premier chirurgien qui, en 1870, fit une injection de morphine avant de chloroformer.

En général les chirurgiens ont été très favorables à cette association. VALLAS (3) a résumé l'opinion chirurgicale en 1908 au Congrès de Chirurgie de Bruxelles, et à côté d'autres avantages, il signale la faible dose de chloroforme nécessaire pour compléter la narcose.

Plus tard on associa morphine-atropine et morphine-scopolamine avec les narcotiques inhalés : quelques accidents de paralysie respiratoire rendirent pourtant les chirurgiens plus prudents.

L'administration de chlorure d'éthyle pour préparer aux inhalations de chloroforme est prônée par certains chirurgiens.

Mais le côté pratique de la narcose ne peut pas nous préoccuper outre mesure, il oriente seulement un peu le choix des essais physiologiques à faire.

Il faut laisser aux chirurgiens l'emploi des méthodes dont ils ont une grande expérience empirique, une intervention précoce des chercheurs de laboratoire risque d'être plus nuisible qu'utile. Nous ne devons chercher que les lois fondamentales dont la pratique pourra tirer fruit, à l'occasion.

Des documents expérimentaux sur les narcoses combinées sont de date plus récente et viennent pour la plupart de l'école de KOCHMANN à Greifswald (7 et 9 à 12).

Parlant des narcoses combinées O. STANGE écrit en 1913 : « Es scheint jedoch dass die aufgeworfene Frage zahlenmässig noch nicht geprüft worden ist. » (10, p. 462).

Plusieurs mémoires sortis du laboratoire de KOCHMANN furent publiés dans les *Archives internationales de Pharmacodynamie* durant 1912 et 1913 ; il s'agissait de chloroforme et d'éther simultanés, de morphine suivie de chloroforme ou d'éther, de scopolamine, morphine-scopolamine, chloral, veronal ou paraldéhyde suivis des narcotiques inhalés.

Il semblerait donc que nous aurions pu nous dispenser de répéter des expériences abondamment faites. Notre appareillage beaucoup

plus simple nous permit de refaire quelques contrôles. Et nous y fûmes engagés par des conceptions nouvelles résultant des expériences de nos prédécesseurs au laboratoire de Louvain, MAGOS (17) et VAN DESSEL (18).

Les résultats des élèves de KOCHMANN nous étonnaient un peu. Après la morphine ou le chloral, les quantités d'éther ou de chloroforme devaient rester les mêmes que dans les narcoses simples, ou elles pouvaient être réduites d'un tiers seulement, et encore cette réduction s'appliquait tantôt à la narcose légère « Operationsreife », tantôt à la narcose profonde, caractérisée par la disparition de tous les réflexes défensifs. Nous reviendrons sur ces détails pour chaque médicament en particulier.

Les idées directrices dans l'école allemande étaient à ce moment tournées vers la « Potenzierung » des médicaments : FÜHNER (8) avait fait une expérience sur souris montrant que « 1 dose de morphine + 1 dose de scopolamine » suivies d'éther, étaient plus efficaces que « deux doses de morphine » ou « deux doses de scopolamine » suivies du même éther.

A l'école de GEPPERT (2) à Giessen, on était aussi arrivé à provoquer des narcoses avec 30 % en moins de chloroforme après morphine. C'était donc toujours l'effet cumulatif qui était envisagé.

Il est bien vrai, d'après STANGE, qu'à l'école de GEPPERT, on avait attribué un certain rôle à l'ampleur de la respiration, mais les expériences publiées dans une dissertation de DUNKER (2) ne semblent pas avoir mis ce point en relief, car O. STANGE (p. 467) ne semble guère y croire, ou du moins il n'en tient aucun compte.

Or, d'après les conceptions exposées ci-dessous, la respiration jouerait un rôle prédominant, et comme la respiration est influencée au plus haut degré par la morphine ou par le chloral, les expériences faites avec ces médicaments exigent un contrôle constant de l'ampleur respiratoire, avant qu'on puisse en interpréter les résultats.

Nous touchons ici un point de doctrine générale, sur lequel nous n'avons pas insisté dans notre premier mémoire (19), où nous avons toutefois signalé les faits énoncés par TISSOT.

Pour P. BERT, la quantité absolue de chloroforme inhalée n'a aucun sens, il le dit expressément : seule la tension gazeuse du narcotique présente de l'importance. Or, dès 1906, TISSOT combat l'intégrité de cette proposition, et il fit quelques expériences, trop peu nombreuses malheureusement, dont la portée ne semble pas être bien saisie par les pharmacologues. TISSOT opérait sur des chiens dont il forçait mécaniquement la respiration, en comprimant rapidement le thorax, au point de *décupler* le volume d'air inhalé en un temps donné. Et ainsi il obtint deux effets en contradiction avec les données de P. BERT et de NICLOUX. 1° En présentant des atmosphères très pauvres en chloroforme il obtenait néanmoins la narcose grâce à la respiration

artificiellement exagérée, alors que d'après les chiffres de P. BERT il n'aurait pu obtenir d'insensibilité, même après une heure.

2° Ensuite, en présentant une atmosphère à charge usuelle pendant la violente respiration, il obtint en une *minute* un état préagonal et une charge du sang dépassant de loin le chiffre mortel maximal déterminé par NICLOUX. L'unique expérience de ce dernier genre prêtait à critique, car TISSOT prit la tension artérielle de son chien durant les manœuvres respiratoires, et on voit la tension carotidienne tomber rapidement, au point d'atteindre le zéro à la fin de la première minute. L'air inhalé ainsi de force atteignait 34 litres au lieu de 3 à 4 litres. On est en droit de se demander si les violences faites sur le thorax n'étaient pas *choquantes* et n'entrainaient pas à elles seules, la chute de la tension sanguine. Toutefois on aurait dû admettre avec TISSOT que les taux établis par P. BERT n'étaient que conditionnels, et que les chiffres de NICLOUX pouvaient être dépassés sans entraîner la mort.

TISSOT ne semble pas avoir saisi lui-même toute la portée de ses expériences, car dans ses conclusions il affirme seulement qu'il faut tenir compte et de l'entrée plus ou moins abondante du narcotique dans le poumon et du départ du narcotique vers les tissus. TISSOT n'est guère cité que par les traités français et encore est-ce bien superficiellement.

Les expériences de MAGOS (17) faites au laboratoire de Louvain, donnèrent à cette question une tournure inattendue. Le sang n'est pas en équilibre de tension avec l'atmosphère chloroformante, loin de là : la tension des vapeurs de chloroforme dans le sang ne dépasse guère le quart de leur tension dans l'atmosphère inhalée. Et les tissus ne sont guère en équilibre avec le sang, au moins durant la première heure de narcose chloroformique, puis qu'ils continuent à enlever au sang la même dose par minute. D'autre part, dès la *deuxième* minute de la chloroformisation, le sang présente déjà une charge complète qui n'augmentera plus, et pourtant l'animal est encore bien conscient et sensible ; ce n'est que vers la 7e minute, que la crise d'excitation apparaît et vers la 10e minute que l'animal sera insensible. Durant tout ce temps et durant *toute la première heure* au moins, le sang en traversant les tissus perd un tiers de sa charge en chloroforme, et il vient reprendre ce tiers au poumon.

Cherchant quel facteur pourrait empêcher le chloroforme du sang de se mettre en équilibre avec celui de l'atmosphère, MAGOS trouve *par le calcul* que la dose de chloroforme introduite par minute dans le poumon serait matériellement insuffisante pour établir cet équilibre. Le sang prend aux alvéoles pulmonaires tout le chloroforme offert, à peu de chose près, seulement au taux de l'atmosphère inhalée et pour le volume respiré, les quantités de chloroforme disponibles dans le poumon sont insuffisantes.

Cette interprétation de MAGOS était établie par un calcul assez facile, trois chiffres seulement étant mis en regard :

1° *Volume inhalé*, pour l'homme : 5 litres par minute.

2° *Taux* de l'athmosphère : 10 gr. pour 100 litres = 0,5 gr. pour 5 litres.

3° *Différence* entre le sang veineux et le sang artériel : 0,03 — 0,02 gr. sur 100 cc. = 0,5 pour 5 litres de sang.

Donc l'apport au sang est limité par la quantité absolue apportée au poumon.

Les résultats de TISSOT s'expliquaient dès lors, mais de nouvelles expériences pour les confirmer et les étendre ne furent point faites.

Tout cela ne concerne que le chloroforme.

S'il fallait en croire les expérimentateurs américains qui ont repris ces dernières années l'étude de l'éther, la situation serait tout à fait différente pour l'éther. HAGGARD (15) a publié une série de travaux sur la tension de l'éther dans l'eau et dans le sang. Il croit avoir prouvé, au moyen de méthodes originales, 1° que, pour des tensions de vapeur données, le sang et l'eau ont des charges absolues d'éther qui sont très rapprochées ; 2° qu'après 20 minutes, tout l'organisme est en équilibre de tension avec l'atmosphère inhalée, car il ne détitre plus cette atmosphère ; 3° que la charge en éther de l'eau en équilibre avec les atmosphères de P. BERT correspond assez bien à la charge sanguine trouvée par NICLOUX durant la narcose ; 4° que si la respiration est exagérée, l'équilibre est plus vite établi et que la narcose est plus rapide (mais pas plus profonde).

Si tout cela était vrai, il faudrait admettre une différence énorme entre le chloroforme et l'éther. Mais nous avons de sérieuses raisons pour croire qu'il y aura de fortes corrections à apporter aux thèses de HAGGARD, spécialement au point de vue de l'équilibre de tension entre le sang et l'atmosphère éthérée. Des expériences en cours, faites à côté de nous, montrent que cet équilibre est peut-être aussi mal établi pour l'éther, que pour le chloroforme.

Cette question, très dure à déchiffrer, peut donc être laissée en suspens, et nous nous croyons autorisé, malgré HAGGARD, à supposer des situations similaires pour les deux grands narcotiques, chloroforme et éther.

Pour nous, la question se pose de la façon suivante : si le calcul de MAGOS est exact, le *volume* de l'air chloroformé ou éthéré, inhalé en 1 minute, aura la plus grande influence sur la narcose. Si ce volume est doublé (sans toucher au taux du chloroforme), la dose de narcotique disponible pour le sang sera doublée et on aura le même effet que si, avec un volume respiratoire normal, on avait doublé le taux du chloroforme dans l'atmosphère inhalée.

Inversément si le volume respiratoire est réduit, la dose reprise par le sang deviendra insuffisante et ce n'est qu'une atmosphère *surchargée* et réputée toxique par P. BERT, qui donnera la narcose.

Cette question intervient dans toute narcose, et spécialement elle s'impose à propos des médicaments modificateurs de la respiration, si on les emploie avec le chloroforme ou l'éther. Si nous parvenons à la résoudre, non seulement les résultats obtenus antérieurement par l'école de KOCHMANN, pour les narcoses combinées, exigeront une nouvelle interprétation, mais surtout l'influence de la respiration deviendra majeure pour toute narcose chloroformique ou éthérée. Si cette thèse était prouvée, elle aurait des conséquences pratiques capitales : les taux de P. BERT seraient relégués au second plan, et le volume respiratoire, ou plutôt la *quantité absolue* de chloroforme inhalé deviendrait prédominante ; les taux ne seraient qu'un des deux facteurs de la posologie narcotique :

Taux × *Volume* = *Quantité absolue* = *Dose narcotique.*

MÉTHODES.

Nous fûmes forcé pour certaines expériences de modifier la méthode adoptée jusqu'ici. Pour toutes les expériences de notre premier mémoire (19), l'animal *intact* était placé dans une cloche de 25 ou de 40 litres environ, et une dose mesurée d'éther ou de chloroforme était répandue dans la cloche de façon à en répartir uniformément les vapeurs.

Ici, nous voulons mesurer le volume respiratoire de nos lapins à divers moments de l'expérience, nous ne pouvons donc plus placer l'animal *dans* la cloche. L'animal est donc trachéotomisé, et une tube en T est inséré dans la trachée A ; l'animal est lié sur une table d'opération ordinaire à côté du réservoir R contenant l'atmosphère narcotique, fig. 1. La branche droite de la canule trachéale communique avec la

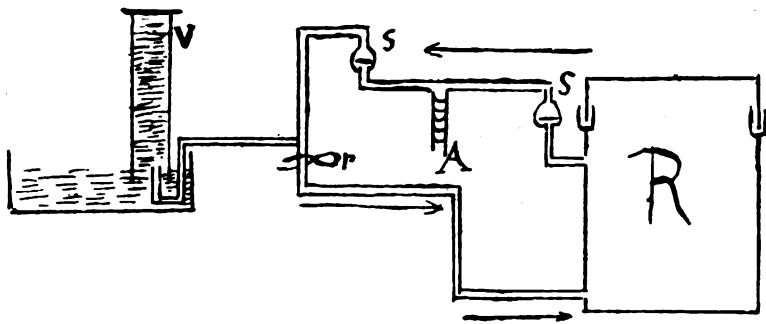



Fig. 1.

cloche par un tube en verre ; ce tube porte une soupape S, soupape large à mica et sans résistance, comme celles qui servent dans les appareils à métabolisme pour l'homme.

La branche gauche de la canule trachéale porte d'abord une soupape similaire orientée pour l'expiration ; puis le tube qui sort de la

soupape, est bifurqué ; une branche retourne au réservoir et l'autre est disposé de façon à ce qu'on puisse à tout moment amener l'air expiré sous un verre gradué rempli d'eau et plongeant dans un bain d'eau. Ce verre gradué mesure 200 cc. Il s'agit pour nous de mesurer le temps que met l'animal à expirer 200 cc. d'air, mesuré toujours sous la même tension d'eau et à la température du bain. Une simple manœuvre de la pince p permet de diriger l'air expiré vers le verre gradué V ou de le faire retourner vers le réservoir.

Sauf au moment où l'on mesure le volume respiratoire, l'animal respire en circuit fermé, sans soufflerie, grâce aux soupapes, et l'air expiré ne se mêle pas directement à l'air inspiratoire.

Quand nous voulons surcharger de CO_2 l'atmosphère du réservoir, nous mesurons dans des grands flacons spéciaux les litres de CO_2 commercial que nous voulons introduire, fig. 2, et par un système de

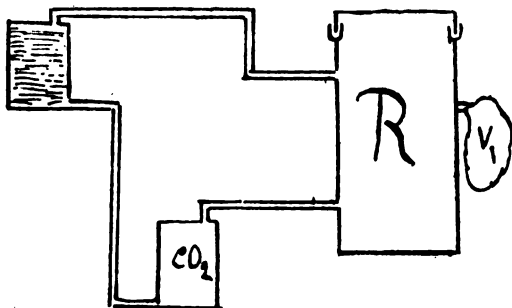



Fig. 2.

vases communicants, nous lançons le CO_2 dans le réservoir tandis qu'un volume identique d'air en est retiré. En un rien de temps, le transvasement est fait, sans influencer la tension dans le réservoir.

Le narcotique est ensuite introduit dans le réservoir par une 4^e tubulure latérale (non indiquée dans la figure 1) et un agitateur passant par une 5^e tubulure fait rapidement le mélange de tous les gaz. Alors seulement l'animal est raccordé au réservoir, et en respirant il fait fonctionner le courant, grâce aux soupapes.

On juge facilement de l'état narcotique de l'animal, puisqu'il est toujours à portée de main.

Toutefois nous ne pouvons faire *toutes* nos expériences selon cette méthode nouvelle. La trachéotomie, la contrainte sur une table d'opération, la résistance des soupapes quelque légère qu'elle soit, d'autres facteurs encore pourraient modifier les réflexes respiratoires. Et comme l'appréciation d'une narcose est toujours comparative, nous avons mis un certain nombre d'animaux *sans attaches* dans le réservoir après leur avoir donné la morphine ou le chloral. Dans ce cas, le volume respiratoire n'est pas pris, les notions acquises à ce sujet dans les autres expériences servent de guide.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Puisqu'il s'agit de mesurer le volume respiratoire, et de voir si ce volume influence la narcose, il nous fallait connaître d'abord l'effet de chaque médicament isolé et l'effet des combinaisons médicamenteuses employées.

De nombreux documents existent sur l'effet respiratoire de médicaments employés isolément. On ne trouve presque plus les premiers travaux qui ont montré que la morphine diminue le débit respiratoire, cette notion est classique ; le chloral donne lieu à controverse, l'effet dépend des doses ; le chloroforme a peu d'influence et l'éther n'en a presque pas, sauf certaines restrictions qui apparaîtront ici. Par contre le CO_2 à certaines doses amplifie la respiration.

La seule chose qui nous intéresse ici est le *volume* respiratoire, le « minute-volume » des anglais ; la lenteur ou le rythme respiratoire, souvent trompeurs, n'entrent pas en ligne de compte.

Des travaux récents faits en Amérique nous documentent à nouveau avec une précision assez grande sur les faits que nous devons envisager.

DAVIES, BROW et BINGER (16) nous donnent les meilleures indications concernant « la réponse respiratoire à l'anhydride carbonique ». Le volume-respiratoire normal étant 100 :

vers 3 % de CO_2 ce volume devient	150
vers 4 % de CO_2 il devient	200
à 5 %	300
à 6 %	450
à 7 %	700

Ces expériences furent faites sur l'homme, et les auteurs signalent p. 43-44, que les atmosphères de 4 à 5 vol. % de CO_2 « does not demand any abnormal effort » ; pour de plus fortes charges en CO_2, il se manifeste seulement de la fatigue des muscles respiratoires. Or les auteurs américains poussent le volume de CO_2 jusque 8 % et plus. Aucune autre sensation n'est signalée. Nous aurons donc là un excellent stratagème pour augmenter le volume respiratoire, sans recourir aux manœuvres brutales de TISSOT.

Récemment encore SCHMIDT et HARER (15) nous renseignent non seulement sur l'effet de la morphine, mais aussi sur l'effet de morphine + CO_2. Le CO_2 n'est malheureusement pas dosé dans ces expériences, le tube amenant le CO_2 est placé sous le nez de l'animal. En tout cas, malgré la morphine le volume respiratoire passe de 706 cc. à 4018 cc. grâce au CO_2. Nous verrons qu'ici les doses de DAVIES ont probablement été dépassées, car nous n'obtiendrons pas de pareilles dyspnées.

D'ailleurs, comme nous combinons toujours éther ou chloroforme

avec morphine, chloral ou CO_2, il nous faudra vérifier pour chaque cas si la modification respiratoire désirée est atteinte. Des variations parfois inattendues résultent de la combinaison des narcotiques.

CHAPITRE I.

Morphine suivie de chloroforme ou d'éther

Nous devons voir : 1° l'influence de la morphine sur la *narcose* des animaux libres, dans la cloche de 40 litres, et soumis là à l'éther ou au chloroforme, selon la méthode employée pour tous les animaux de notre premier mémoire.

2° Nous devons mesurer la *respiration* sous l'effet de la morphine seule ou de la morphine suivie des narcotiques.

Nous rétablirons ensuite une respiration d'ampleur normale par le CO_2, chez les animaux morphinisés.

Enfin, comme corollaire, nous verrons l'effet du CO_2 seul, ou associé au narcotique volatil, mais sans morphine.

Effet de la morphine sur la dose narcotique de chloroforme ou d'éther.

Les animaux, poids moyen de 2 à 2,5 kilogr., recevaient d'abord *un centigr. de morphine par kilogr.*, sous la peau. Dix, 15 à 20 minutes après l'injection, les animaux en plein effet morphinique (jugé par le ralentissement respiratoire) étaient soumis à des atmosphères de chloroforme ou d'éther.

Une série de tâtonnements nous démontrèrent qu'après certaines doses de morphine, les doses usuelles de narcotiques gazeux n'avaient plus l'effet anesthésiant attendu : même il fallait soit prolonger outre mesure la durée de la haute dose de narcotique avant d'arriver à l'anesthésie, soit surélever la charge de l'atmosphère loin au delà de ce qu'un lapin normal supporterait.

Les 4 expériences suivantes démontreront cela péremptoirement :

A. Morphine suivie de chloroforme.

Exp. 5. — Le lapin a reçu dans la veine de l'oreille, un centigr. par Kil. de chl. de morphine, 10 minutes avant la narcose

Minutes :	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
État de l'animal							—					+
% en chloroforme	15	15		15		15		15		15		15

Exp. 6. — Le lapin a reçu un centigr. par Kil. par voie souscutanée 20 minutes avant la narcose

Minutes	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50	55	60
État de l'animal				+	+		+		+		++	
% de chloroforme	20	20	20	13	7	7	7	7	10	10		

L'animal 5 morphinisé mis dans 15 gr. de chloroforme pour 100 litres d'air est encore très sensible après 35 minutes, ce n'est qu'après une heure entière qu'il devient opérable.

L'animal 6, tolère 20 minutes de 20 gr. de chloroforme.

Ils seraient morts tous les deux, s'ils n'avaient pas été sous l'influence de la morphine.

B. Morphine suivie d'éther.

Exp. 7. — Le lapin a reçu 1 cent. de morphine par Kil. 10 minutes avant le début de la narcose.

Minutes :	5	10	15	20	30	40	50	60
État de l'animal			—		—			+
% d'éther :	40		40		40	40	40	40

Exp. 8. — Même dose de morphine

Minutes :	5 10 15	20	25
Etat de l'animal		+	++
% d'éther	150 ? < 80	100 ? < 80	

L'animal 7 mis à 40 gr. d'éther n'est insensible ni après 15, ni après 30 minutes ; après 1 heure il devient opérable.

Le lapin 8 est mis à une dose massive d'éther, mais le chiffre de 150 gr. n'est certaienement pas atteint, car la grande masse gazeuse soulève plusieurs fois le couvercle, faisant fuir air et vapeurs d'éther.

La dose néanmoins dépasse de loin la dose usuelle de 40 gr. et en l'estimant entre 70 et 100 gr. par 100 litres nous n'exagérons rien. Or l'animal supporte cette dose durant 15 minutes.

La dose suivante, où on n'essaya que d'introduire l'équivalent de 100gr., n'est peut-être pas très différente de la 1e, car la fuite d'air n'avait été que minime ; après 10 nouvelles minutes l'animal était en danger et il fallut couper l'expérience à la 25e minute de la narcose.

En tout cas, ceci montre bien la similitude d'effet de la morphine (facteur respiratoire) sur l'éther et sur le chloroforme.

Cet effet paradoxal de la morphine, ne fut pas signalé par Stange; il apparaît peut-être mieux dans nos expériences avec 1 cg de morphine par Kil., parce que si on donne comme Stange, 2 cgr. par Kilogr., l'animal réagit si peu aux excitations douloureuses qu'il devient difficile de juger de l'effet ultérieur du narcotique gazeux.

En tout cas, la morphine à la dose de 1 centigr. par Kilogr., fait tolérer par le lapin des doses énormes, ultra-mortelles, de chloroforme ou d'éther.

Il fallait préciser le facteur respiratoire.

CHAPITRE II.

Modifications respiratoires.

Il nous faut voir : 1° l'effet de la morphine seule, du chloroforme seul ou de l'éther seul ;

2° l'effet de la combinaison de la morphine avec chloroforme ou éther ;

3° l'effet du CO_2 seul ou avec les médicaments susmentionnés.

Morphine seule.

Il importe de voir jusqu'où s'appliquent les données classiques aux conditions expérimentales que nous produisons. (1)

Des graphiques que nous rencontrons plus loin montrent que le demi centigr. par Kil. influencent peu le volume minute, mais le centigr. par Kil. réduit ce volume de moitié : graph. 17 et 18, puis 20 montrent dans la première partie l'effet de la morphine seule : les doses indiquées sont la quantité absolue donnée à un animal de 2, 2 Kil. (17 et 18) ou de 2,5 Kil. (20). Cet effet se voit encore dans le graph. 14, partie C.

L'effet de la morphine seule est régulier et sans surprises.

Chloroforme seul.

Les résultats sont un peu moins réguliers. En général le chloroforme ne modifie pas systématiquement la respiration. On trouve des cas où la respiration *ne varie guère*, comme dans ce cas où la dose était modérée et où l'anestésie fut obtenue lentement et graduellement.

Exp. 9. — Effet de 10 gr. chloroforme pour 100 litres d'air expérience faite uniquement en vue du volume-minute.

Minute :	0	20	30	40	50	65
Volume en cc. :	750	750	750	750	750	750
Narcose :		—	±		+	+

Beaucoup plus souvent le volume oscille autour de la normale.

Exp. 10. — Mêmes doses que dans l'expérience précédente.

Minute :	0	0	5	10	20	25	35	45	50	55
Volume en cc. :	700	700	700	950	720	550	450	700		700
Narcose :						—				+

Voir aussi le graphique 14A.

---

(1) Les données d'expériences complexes, comportant plusieurs influences sur la respiration sont mises en graphiques.

Les lignes à gros points représentent le volume inhalé *par minute*, pour des animaux trachéotomisés et liés sur la planche. L'échelle de ces volumes est marquée à droite des graphiques.

Au cours de chloroformisations plus irrégulières des hausses ou des baisses momentanées sont dues sans doute à une agitation d'angoisse ou à une lipothimie, car on ne trouve la divergence qu'une fois entre deux mesures à peu près équivalentes. Dans l'expérience 11, il y a une hausse de ce genre à la 45^{e} minute.

Exp. 11. — La dose de chloroforme est d'abord durant 5 minutes à 13, puis 20' à 7, ce n'est qu'après la 30^{e} minute que le volume-minute monte anormalement. La narcose n'était suffisante qu'à la 50^{e} minute.

Minute	0	0	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
Volume en cc.	620	520		480	480			520	980	1020	2000	980
% de chlorof.			13	7	7	7	10	16	10	10	10	10

Quand la narcose est atteinte, des lipothimies s'inscrivent dans la courbe respiratoire comme dans les graphiques 15 et 16 que nous interprétons plus loin.

Éther seul.

A dose faible, non narcotique, l'éther inhalé par canule trachéale influence peu la respiration.

Exp. 12. — La charge d'éther est de 12,5 gr. par 100 litres, durant 50 minutes.

Minute :	5	10	15	20	35	45	50
Volume en cc.	520	500	520	520	720	720	1000

La tendance à la hausse est beaucoup plus précoce si on donne des doses narcotisantes ; mais quand la narcose est bien profonde, le volume respiratoire revient vers la normale et s'y maintient.

Exp. 13. — Ethérisation typique par doses décroissantes.

Minute :	0	0	5	15	20	25	30	35	40	45	50	55
Vol. en cc.	500		500	1000		1000	900	500	500	500		500
Narcose				+		+			+		+	
% éther	0		40	40	30	30	30	20	20	20	20	20

Voyez aussi le graphique 26 A.

Ces oscillations et ces variations dépendent probablement de réflexes douloureux ou psychiques.

Morphine avec chloroforme.

Quand la morphine n'a pas abaissé notablement un volume respiratoire parce que sa dose est trop faible, l'administration du chloroforme accentue la baisse du volume et cet effet est très sensible,

presque constant gr. 14 : l'animal n'avait reçu que 5 milligr. de morphine par Kil. L'effet nocif des deux sera encore plus manifeste quand on cherchera l'effet respiratoire du CO_2.

CHARGE DE CO_2.

Chose curieuse, le lapin ne réagit pas aussi vivement que l'homme. 6 % en volume, bien mesuré, ne doublait pas surement le volume respiratoire ; ce n'est qu'à partir de 7 % que l'effet désiré s'obtient, et à 8 % l'animal ne semble guère angoissé ; il soutient longtemps ce taux. Nous parlons évidemment de la charge apparente que nous y mettions, quoiqu'une erreur de plus de 1 % est exclue. La confiance dans les chiffres américains nous fit perdre inutilement une série d'animaux.

Nous avons donc adopté une même charge invariable de 7 à 8 % de CO_2 en volume (1).

Ainsi on obtient facilement un volume-minute doublé : graph. 26 C, et souvent on obtient davantage : gr. 21, 15 et 16.

Très peu de chloroforme, vers 5 gr. par 100 l., ne contrecarre pas sensiblement la réaction au CO_2 : graph. 21. Beaucoup de chloroforme diminue la réaction du CO_2 : gr. 15, 16.

Quoiqu'il en soit, après la morphine nous parvenons facilement à ramener une respiration normale par le CO_2 : graph. 17, 18, 24, 25.

Dans un essai similaire avec l'héroïne, nous avons totalement échoué à relever la respiration par le CO_2 : l'animal se laissait asphyxier sans réagir.

Conclusions : Dans les circonstances et avec les doses que nous employons, nous constatons :

1° Que le chloroforme ou l'éther seuls n'influencent pas d'une façon typique le volume respiratoire ; celui-ci peut rester très régulier aux environs du volume normal, d'autrefois il oscille autour de la grandeur normale. Et cela fut ainsi dans de nombreuses expériences dont nous n'avons pas pris le protocolle.

2° Par contre, une dose de 1 centigr. de morphine par Kil. réduit régulièrement le volume par minute, au moins de 50 %, parfois davantage.

Si alors on intervient avec le chloroforme, cette réduction s'accentue.

3°. Le CO_2 de 7 à 8 % (en volume) double ou triple le volume respiratoire, de l'animal normal.

Si on donne en même temps le chloroforme ou l'éther, l'augmentation de volume est manifestement moindre mais, elle existe toujours.

---

(1) Dans les graphiques nous marquons par une triple barre ≡ la présence de 8 % de CO_2 dans l'atmosphère inhalée.

Après la morphine, le CO_2 ramène assez facilement la respiration vers le volume normal ; il faut toutefois vérifier chaque fois le résultat, car les deux agents s'influencent réciproquement et assez irrégulièrement.

Nous pourrons donc, grâce au CO_2, faire varier le volume respiratoire dans l'intoxication morphinique, telle que nous la produisons.

CHAPITRE III.

EFFETS NARCOTIQUES.

Remarquons, au préalable, que CO_2 seul n'a aucun effet narcotique, même à la dose capable de tripler le volume respiratoire ; l'animal reste accroupi, mais dès qu'on le libère de l'atmosphère carbonique, il saute comme d'habitude. Même aux très fortes doses de 8 % en volume, le CO_2 ne nous a jamais montré d'effet narcotique reconnaissable sur le lapin. Les expériences américaines sur l'homme nous donnent d'ailleurs toute garantie à ce sujet.

A. — Or la morphine seule, nous l'avons vu plus haut, abaisse le volume respiratoire surtout en présence de chloroforme, et elle rend insuffisants les taux usuels de chloroforme ou d'éther (chap. I).

B. — Par contre, quand le CO_2 a ramené vers la normale le volume respiratoire du lapin *morphinisé*, non seulement on peut revenir au chiffre normal, pour le taux de chloroforme ou d'éther, mais on obtient un effet excessif et le lapin dormira dans une atmosphère normalement insuffisante.

Voici d'abord les expériences au chloroforme :

Le lapin du graph. 17 pesant 2 Kil., a reçu 3 cg. de morphine. le CO_2 a rétabli précisément le volume respiratoire normal. Alors *cinq* minutes à 10 gr. % de chloroforme suffisent pour anesthésier profondément, abolissant tous les réflexes et mettant l'animal en danger, + +.

Le graph. 18 montre le même résultat après 2 centigr. de morphine : après 10 min. de 10 % de chloroforme, l'animal est en syncope (ce qui donne la baisse brusque de la respiration à ce moment). On le ranime, la respiration normale reprend et en cinq nouvelles minutes de 10 gr. de chloroforme, la suppression des réflexes est atteinte.

Le lapin du graph. 20 ne reçoit que 4 % de chloroforme ; après 3 cg. de morphine pour 2,5 K., avec du CO_2, cette dose se montre insuffisante même après 15 minutes, mais alors une dose de 7 % de chloroforme atteint le but en 5 minutes. L'unique baisse du volume respiratoire à la 5^{e} minute de l'inhalation chloroformique ne doit pas être interprêtée comme la mesure d'un état permanent,

c'est une des oscillations extrêmes, comme on en voit dans le graph. 15.

Le résultat est au moins aussi clair pour l'éther, parce que la respiration est plus régulière.

Le lapin du graph. 24 morphinisé et dans le CO_2, est en danger après 5 minutes de la dose usuelle de 40 % d'éther.

Le lapin du graph. 25 dans les conditions bien similaires avec un volume respiratoire normal (grâce à la morphine + CO_2) ne reçoit que 15 % d'éther. Il est en narcose en 15 minutes.

Jamais pareille dose d'éther n'aurait un effet narcotique *même après une heure* chez un animal non morphinisé.

Conclusion : Après la morphine, pourvu que la respiration soit ramenée au volume normal par le CO_2, la charge de chloroforme ou d'éther peut être notablement réduite.

CHAPITRE IV.

CO_2 + CHLOROFORME OU ÉTHER.

Si le volume respiratoire joue réellement le rôle présumé, il faudra qu'une respiration suractivée par le CO_2 seul, abaisse le taux des narcotiques. HAGGARD a publié trois expériences pareilles avec l'éther.

Nous avons répété un grand nombre de fois les expériences à ce sujet, et pour les rendre plus probantes, nous les avons aussi répétées sur le même animal, en laissant entre deux narcoses une heure de repos. Quand nous faisons de ces répétitions sur un animal, nous avons soin de couper la narcose dès qu'elle est constatée. L'animal subit ainsi un minimum d'intoxication dont il est bien remis après une heure.

Voici la suite de ces expériences :

Le lapin du gr. 15 présente un volume respiratoire quadruplé par une charge de CO_2 (un peu plus que d'habitude) ; on ajoute à son atmosphère 10 gr. % de chloroforme. En 10 minutes il est narcotisé. Alors les volumes respiratoires se montrent très labiles, l'animal lutte contre une baisse du volume, qui s'installe progressivement; et la narcose sera fatale à la 35^e minute.

Le lapin du graph. 19, dont le volume respiratoire est doublé, dort en 10 minutes pour 10 % de chloroforme.

Le lapin du graph. 16, dans les mêmes circonstances est narcotisé en 5 minutes par 11 gr. de chloroforme, vers la 25^e minute il est agonisant et le volume respiratoire est redevenu faible,

c'est grâce à cela probablement que son agonie se prolonge encore 15 minutes.

L'expérience du graph. 21 est plus nette. Dans une atmosphère carbonique qui quadruple son volume respiratoire, cinq gr. % de chloroforme met l'animal en danger mortel en 10 minutes ; malheureusement pour lui, l'animal avait conservé sa forte ventilation.

Nous descendons encore le taux du chloroforme, à 4 %, (même graphique), mais ceci est trop peu ; en le passant à 6 %, la narcose s'obtient en 5 minutes supplémentaires.

L'expérience du graph. 14 montre chez le même lapin de 2 Kil., l'effet de 10 gr. % de chloroforme comparativement dans les 3 circonstances suivantes :

A. — A l'état normal après 15 minutes, il est tout-à-fait mobile et vivant ;

B. — Dans le CO_2 avec double volume respiratoire il est presque endormi en 5 minutes et se trouve en danger après 15 minutes ;

C. — Avec un centigr. de morphine sans CO_2, il est après 30 minutes dans le même état qu'en B après 5 minutes.

Les expériences à l'éther donne des résultats similaires.

Le lapin du graph. 22 a son volume respiratoire presque triplé par le CO_2 ; 20 % d'éther durant 10 minutes se montrent insuffisants, mais 5 minutes à 30 % donne l'état opérable.

Le lapin du graph. 23 a son volume respiratoire doublé, 15 minutes d'éther à 25 % n'ont pas donné de narcose suffisante, il lui faut encore 5 minutes à 30 %.

La série comparative sur un même animal est plus convaincante : celle du lapin 26.

A. — L'animal, qui respirait peu, a élevé son volume respiratoire sous l'influence de l'éther seul : 40 gr. d'éther pour 100 litres le rendent insensible en 15 minutes.

B. — Avec la respiration presque doublée par le CO_2, il se trouve en danger de mort après 5 minutes.

C. — L'effet du CO_2 seul est plus grand sur le volume respiratoire que en association avec l'éther.

D. — L'immense influence de la morphine seule sur l'éther a été mieux établie par les lapins 8 et 7 (page 10), que par cet animal-ci.

Conclusions : Un animal respirant par minute un volume double à quadruple d'air, grâce à la charge de CO_2, est narcotisé par des atmosphères présentant un taux en chloroforme ou en éther manifestement inférieur au taux normal. La différence peut dépasser 50 %, c'est-à-dire que le taux peut tomber sous la moitié du taux normal.

Celui qui considérerait ces expériences isolément pourrait évidemment interprêter de deux façons ces résultats, soit par une action narcotisante de CO_2, soit par le volume respiratoire.

Provisoirement, nous constatons seulement les faits.

CHAPITRE V.

LE CHLORAL SUIVI DE CHLOROFORME OU D'ÉTHER.

Il importe de multiplier les formes d'intoxication qui influencent la respiration : si les effets narcotiques suivent, dans tous les cas, le volume respiratoire, l'influence de ce dernier en deviendra de plus en plus probable.

Le chloral a été étudié par SCHMIDT et HARER (14) dans ses effets sur la respiration, et ces auteurs trouvent le minute-volume plutôt augmenté jusqu'aux hautes doses de 30 centigr. par Kil. Seulement il faut remarquer cet étrange détail : tous les animaux étaient décérébrés : « decerebrated animals only were employed » (p. 72).

Chez nos animaux non décérébrés, la dose de 15 cg. par Kil. reduisait nettement le volume respiratoire (sans changement du rythme).

BARTEN (12) donnait à ses animaux 10 centigr. de chloral par Kil. Ce n'est pas assez pour obtenir de sérieuses modifications respiratoires.

Aussi BARTEN constate que l'association de 10 cg. par Kil. de chloral avec le chloroforme abaisse le taux de celui-ci de 23 à 21 % ; et pour l'éther, il n'y a que peu d'abaissement pour l'Operationsreife, la narcose devenant vite profonde: celle-ci survient avec une réduction de 30 %.

L'attention des élèves de KOCHMANN n'étant pas fixée sur le point qui nous occupe ; aussi, nous avons fait une série d'expériences parallèles de celles faites avec la morphine.

Expériences.

Chose curieuse, à la dose 15 cg. par Kil. de chloral, qui réduit la respiration, le taux usuel de chloroforme et d'éther a un effet narcotique plutôt amoindri. En tous cas l'effet cumulatif, constaté par BARTEN pour des doses moindres, a disparu.

Le lapin du graph. 29 supporte 15 minutes de 14 gr. de chloroforme, mais 20 minutes le mettent en danger.

Le lapin 27, chloralisé à 15 cg. par Kil., dort, il est vrai, après 15 minutes d'éther à 40 gr. % comme la plupart des normaux (p. 240 et 241 du mémoire 19) ; mais, chose curieuse, en abaissant ensuite l'éther

à 30 gr., l'animal se réveille graduellement en 45 minutes, ce qu'aucun lapin normal n'aurait fait.

Exp. 27. — Injection intraveineuse de 15 cg. de chloral avant la narcose

Minute :	5	15		30	50	60
État de l'animal :		+		+	∓	—
% d'éther :	40	40	30	30	30	30

Un essai pour endormir un lapin chloralisé (exp. 28) avec 15 % d'éther, puis avec 22 % le laisse totalement éveillé ; il faut après cela encore 15 minutes de 30 % pour le narcotiser.

Exp. 28. — Après avoir reçu dans les veines 0,15 de chloral par Kil., il passe 10 minutes dans l'éther à 15 %, puis 20 minutes à 22 % et enfin encore 15 minutes à 30 %.

Minute :	10	15	30	45
État de l'animal :	—		—	+
% éther :	15	22	22	30

Les différences ne sont pas grandes, mais ces résultats ne correspondent plus du tout à ceux de Barten. L'animal chloralisé, dont la respiration est réduite, tolère au moins les doses maximales tolérées par les lapins normaux.

Faisons maintenant remonter la respiration chez l'animal chloralisé, au volume normal par le CO_2.

Le lapin du graph. 30 a reçu 15 centigr. par Kil., il est tracheotomisé et respire par des soupapes. Sa respiration s'est réduite de moitié. Le CO_2 fait remonter le volume un peu au dessus de la normale et voilà que *cinq minutes* de 7 gr. de chloroforme pour 100 litres suffisent pour couper tous les réflexes défensifs.

Le lapin du graph. 31 a reçu 25 centigr. de chloral par Kil.; sa respiration était tombée de 800 à 300 cc. par minute. Le CO_2 la ramène à 850-750. 15 gr. d'éther après 10 minutes ne suffisent pas, mais 5 minutes de plus à 20 gr. suffisent.

Voilà donc que pour des respirations normales, l'action cumulative du chloral et des narcotiques gazeux apparaît notable et peut être estimée à 50 %.

Barten trouve en moyenne pour 10 centigr. de chloral une réduction de 30 % à l'éther, et 21 à 23 % au chloroforme; comme il travaillait avec une dose de chloral qui n'influence guère la respiration, nos chiffres correspondent assez bien aux siens.

En somme la cumulation narcotique des deux médicaments, chloral et chloroforme ou chloral et éther, se montre nettement quand la respiration n'est pas réduite; au contraire, quand la respiration est

réduite (0,15 gr. de chloral sans CO_2) l'action cumulative est masquée par la réduction du volume respiratoire.

Il serait bien difficile de faire intervenir ici une action narcotique du CO_2, dont aucun effet n'est perceptible même chez l'animal chloralisé.

Encore une fois dans cette série, l'effet narcotique est nettement influencé par le volume respiratoire.

RÉCAPITULATION DES FAITS CONCERNANT LE VOLUME RESPIRATOIRE.

1° Animal dont le volume respiratoire est doublé *par CO_2* :

26 est en danger en 5 minutes par 40 gr. d'éther, *au lieu* d'être opérable seulement en 15 minutes (même animal et même dose).

2° Animaux dont le volume respiratoire est quadruplé *par CO_2* :

21 est opérable en 10 minutes de 5 gr. de chloroforme ;
et en 5 minutes de 6 gr. (préparé par 20 min. de 4 gr.) *au lieu* d'exiger 10 min. de 15 gr. ou 55 minutes de 12 gr. (3 et 4, page 244 du 1r mémoire).
15 dort en 10 min. de 10 gr. de chloroforme *au lieu de* 15 gr.
16 dort en 5 min. de 10 gr. de chloroforme *au lieu de* 15 gr.

3° Animaux *morphinisés* dont la respiration est certainement *réduite à la moitié* :

7 tolère 60 minutes d'éther à 40 gr. *au lieu de* 15 min. au maximum (p. 240 du 1r mém.).
5 tolère 60 minutes de chloroforme à 15 gr. *au lieu de* 10 min. en moyenne (p. 244 du 1r mém.).
6 tolère 20 minutes de chloroforme à 20 gr. *intolérable* à l'état normal.
8 tolère 15 minutes d'éther à 100 gr., double dose maximale.

4° Animaux *morphinisés* dont la respiration est rendue normale *par le CO_2* :

14 est en narcose dangereuse en 15 minutes, de 10 gr. de chloroforme, *au lieu* de rester entièrement éveillé pour la même dose (même animal).

19 dort en 10 min. de 10 gr. de chloroforme *au lieu* des 25 ou 55 minutes.

24 est en danger par 5 min. d'éther à 40 % qui est le minimum d'une dose narcotique.

25 dort en 15 minutes de 15 gr. d'éther, donc moins de la demi dose normale.

5° Animaux *chloralisés* dont la respiration est réduite de moitié.

29 exige 15 min. de 14 gr. de chloroforme comme les normaux les moins sensibles.

27 exige 15 minutes de 40 gr. d'éther comme les normaux, mais se réveille après 45 minutes de 30 gr., ce qu'un normal ne ferait jamais.

6° Animaux *chloralisés* dont la respiration est rendue normale *par le* CO_2.

30 dort en 5 minutes de 7 gr. de chloroforme, la moitié de la dose minimale à l'état non chloralisé.

31 dort en 10 minutes de 15 gr. + 5 minutes de 20 gr. d'éther, la moitié de la dose normale.

DISCUSSION.

L'influence du volume respiratoire est évidente et s'exerce toujours dans le même sens ; il faut l'admettre à moins de faire pour chaque cas une nouvelle hypothèse peu admissible, soit de cumulation d'effet, soit d'inhibition.

Et si la loi de l'équilibre des tensions gazeuses entre l'atmosphère inhalée et le sang était vraie selon P. BERT et HAGGARD, il faudrait encore trouver une explication plausible à nos faits, car les faits sont incontestables.

Pour nous, nous ne pouvons douter des mesures de MAGOS sur la tension de chloroforme dans le sang, mesures confirmées par les chiffres de VAN DESSEL ; or les calculs de MAGOS font prévoir l'influence prépondérante que le volume d'air aura sur la masse de chloroforme offerte au sang. Dès lors il fallait s'attendre aux résultats de nos expériences, et ils s'expliquent tous parfaitement par cette interprétation.

Ainsi s'établit sur des bases solides une des idées de TISSOT, restée sans écho dans la littérature.

Et nous pouvons conclure, qu'à moins de coïncidences improbables, le chloroforme et l'éther agissent *proportionnellement à la dose absolue que la respiration livre au sang.*

Cette thèse est grosse de *conséquences pratiques.*

Tout sujet dont la respiration est en suractivité, dormira plus vite pour une même concentration de narcotique : le cardiaque, le fébrile, l'urémique, le diabétique, le basedowien, certains névrosés ne

pourraient être mis dans la même atmosphère narcotisante que les autres sujets.

L'asphyxie légère qu'on provoquait sous le grand masque d'éther ou dans les atmosphères confinées du « rebreathing » facilite la narcose, non par un effet narcotique du CO_2 lui-même, mais en augmentant le volume respiratoire et avec celui-ci la quantité absolue d'éther inhalé.

Ainsi plus que jamais est condamnée, avec le principe de P. BERT, l'application d'appareils conformes à son principe. Le petit masque reste l'idéal et le contrôle constant de ce qui se passe constitue le seul guide du chirurgien.

L'action cumulative des narcotiques ou hypnotiques avec les narcotiques gazeux est réelle et *plus forte* que les expériences de KOCHMANN ne la laissaient prévoir, parce qu'il n'était pas tenu compte de la respiration.

Pour ne pas faire fausse route, dans toute posologie de chloroforme ou d'éther, les expérimentateurs devront toujours tenir compte du facteur prédominant constitué par le volume respiratoire.

En affirmant pour l'éther, l'équilibre gazeux entre l'atmosphère et le sang, HAGGARD soutient en ce moment une thèse peu compatible avec nos résultats ; il est presque certain qu'il fait erreur pour une donnée importante.

Les chiffres de P. BERT et de NICLOUX n'ont de valeur que pour les circonstances limitées où *la respiration n'est pas modifiée.*

Les chiffres absolus de notre premier mémoire (19) ne s'appliquent non plus que pour une respiration normale : la dégradation relative des doses aux périodes successives de la narcose n'est pas influencée par les résultats obtenus ici.

Ce retour en arrière aux conceptions d'avant P. BERT, n'est pas peu surprenant pour l'esprit médical ; nous n'avons pu nous y adapter nous-même que forcé par les résultats successifs de nos expériences. Celles-ci avaient été entreprises sur un tout autre plan et plusieurs fois nous nous sommes égaré dans des détails superflus, faute de saisir le rôle primordial de la respiration, et cela malgré les expériences de MAGOS et de VAN DESSEL, faites au même laboratoire, et dont les conséquences auraient dû nous suggestionner plus tôt.

Aussi il n'y a pas lieu de s'étonner que les élèves de KOCHMANN aient achevé la longue série de leurs études sans revenir à la suggestion de l'école de GEPPERT, leur voisine. L'équilibre des tensions gazeuses a ébloui et fasciné les expérimentateurs, au point de leur cacher la vérité évidente. On ne se libère de pareilles suggestions que forcé et contraint par la brutalité des faits ! A ce point de vue la théorie de P. BERT a fait un mal immense à l'étude pharmacodynamique de la narcose.

Cette influence néfaste sera-t-elle brisée désormais? Nous n'oserions l'espérer encore, malgré des faits si probants.

CONCLUSIONS.

1° Chez le lapin la dose préalable de 1 centigr. de morphine par Kil. rend tolérables des atmosphères de chloroforme ou d'éther qui seraient fatales dans une narcose simple.

2° Si l'animal morphinisé reçoit avec le chloroforme ou l'éther une dose de CO_2 qui rétablit le volume respiratoire à sa valeur normale, le taux du chloroforme ou de l'éther peut être réduit de 50 % et produit encore la narcose.

Il y a donc entre la morphine et les narcotiques gazeux, un effet cumulatif qui n'apparaît entièrement que si on rétablit le volume respiratoire grâce au CO_2.

3° La dose de 15 centigr. de chloral par Kil. de lapin rend tolérable le taux usuel de chloroforme ou d'éther, même la tolérance paraît un peu augmentée.

A cette dose le chloral réduit le volume respiratoire de l'animal ; une dose de 10 centigr. ne modifie guère la respiration.

5° Si l'animal chloralisé reçoit en outre du CO_2 au point de rétablir la respiration normale en volume-minute, l'animal se laisse narcotiser par une demi dose de chloroforme ou d'éther.

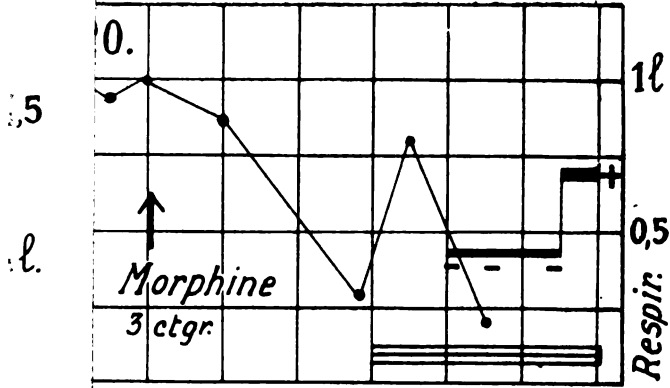
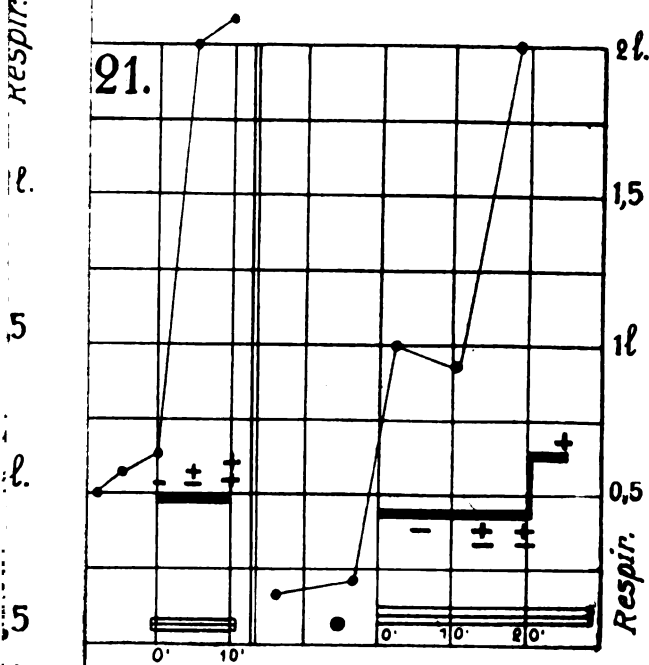
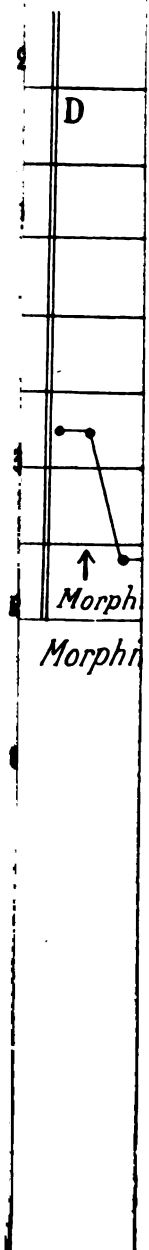
6° L'addition de CO_2, à dose suffisante pour doubler au moins le volume-minute de la respiration, nous oblige de réduire le taux de chloroforme ou d'éther de l'atmosphère inhalée, et cela dans des proportions notables, 50 % et plus.

Or une dose de CO_2 qui entraîne une augmentation du volume respiratoire au quadruple (16) n'exerce aucun effet obnubilant. La morphine combinée avec la dose de CO_2 laisse aussi tous les reflexes défensifs intacts.

Dans toutes ces circonstances l'effet narcotique varie fidèlement avec le volume respiratoire, au point que nous concluons, avec une sécurité suffisante, que *le volume respiratoire joue un rôle prédominant dans la narcose par inhalation.*

BIBLIOGRAPHIE.

1. FODERA et BUGATTI. *Arch. di farmac. et ther.* 10, 1902.
2. DUNKER. *Inaug. Diss., Giessen.* 1907.
3. VALLAS. *Congrès int. de chirurgie à Bruxelles,* 1908.
4. BURGI. *Deuts. med. Woch.,* 1 et 2, 1910.
5. MADELUNG. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.* 62, 1910.
6. CUSHNY. *Journ. of pharmac. a. exp. ther.* 4, 1912.
7. KOCHMANN. *Arch. intern. de pharmac. et de thér.* 22, 1912.
8. FÜHNER. *Deuts. med. Woch.* 3, 1913.
9. RITSCHEL et STANGE. *Archives intern. de pharm. et de thér.* 23, 3-4, 1913.
10. STANGE. *ibid.* 23, 5-6, 1913.
11. LUDEWIG. *ibid.* 1913.
12. BARTEN. *ibid.* 1913.
13. CUSHNY et LIEB. *Journ. of pharm. a exp. ther.* 6, 1914.
14. SCHMIDT et HARER. *Journ. of exper. medic.* 1923, Janvier, 2 mémoires.
15. HAGGARD. *Journ. of biol. chem.* 1924, avril, 5 mémoires.
16. DAVIES, BROW et BINGER, *Journal of exper. medic.* 1925, janvier.
17. MAGOS. *Arch. intern. de pharm. et de thér.* 26, 1921.
18. VAN DESSEL. *ibid.* 27, 1922.
19. L. DECKERS. *ibid.,* 30, 3-4, 1925.

Voir en outre la bilbiographie de ce dernier mémoire.

0.
Morphine
3 ctgr.
1ℓ
0,5
Respir.
orphine + CO + Chloroforme.
21.
2ℓ.
1,5
1ℓ
0,5
Respir.
0'
10'
20'
Chloroforme + CO2.

A',

CO

D

Morph

Morphi

ɔMO
:dal-

ɔ$_7$),
o e
ɛtto
:nte

nel
gli

'SKI
ile-
:are

ne

:nia
ono
.rdo

vati
spo-

INSTITUO DI FARMACOLOGIA E TERAPIA DELLA REGIA UNIVERSITA',
DI NAPOLI. DIRETTORE PROF. P. MARFORI.

RICERCHE FARMACOLOGICHE SULL'ACIDO FILICICO E SULL'ACIDO FILMARONICO

PER

G. PENNETTI
Aiuto.

I. — Introduzione.

Con le ricerche di MALIN (1), LUCK (2), CABROWSKI (3), DACCOMO (4), BOHN (5), per nominare le più importanti, furono isolati dall'estratto etereo di felce maschio intero numerose sostanze.

Ricordero' fra esse l'aspidina ($C_{35}H_{32}O_8$), l'albaspidina ($C_{22}H_{28}O_7$), l'aspidinolo ($C_{12}H_{16}O_4$), l'acido flavaspidico, l'acido filicitannico e l'acido filicico che, ritenuto antielmintico, fu particolarmente oggetto di studio. Tale opinione del resto era gia' antica e risaliva specialmente ai lavori di RULLE (6) e di CARLBLOM (7).

Gli A. però, pure essendo d'accordo sulla percentuale di esso nel rizoma di fresco raccolto (5-6 %) e sulla azione antielmintica, gli attribuirono costituzione chimica diversa.

Così mentre LUCK (2) gli dava la formola $C_{35}H_{31}O_{10}$, CABROWSKI (3) la modificava riducendola a $C_{14}H_{18}O_5$ ritenendolo un dibutirrilefloroglucina e più recentemente DACCOMO (4) potette dimostrare trattarsi di un etere isobutirrico dell' ossinaftochinone.

Di pari paso alle ricerche di laboratorio, il largo uso terapeutico ne dimostrava l'efficacia in varie forme di parassiti intestinali.

Ritenuto attivo specie contro il botriocefalo, poco verso la tenia solium, gli studii di PERRONCITO (8) e di PARONA (9) ne mostrarono la grande utilità nella cura dell' anemia epidemica del Gottardo legata, come è noto, alla presenza dell' anchilostoma duodenale.

Malgrado però i successi terapeutici non erano passati inosservati i gravi inconvenienti, talora mortali, cui spesso il medicamento esponeva,

S'erano notate infatti, anche per dosi molto inferiori a quelle terapeutiche, intolleranze ed avvelenamenti letali in individui con completa integrità renale ed epatica (casi di ERMANN, PALTAUF, SIDLER, HUGUENIN).

Tali rilievi spinsero altri ricercatori a nuovi studi, di questi i più importanti sono quelli di KRAFT (10) che riuscì ad isolare un' altra sostanza l'acido filmaronico che trovasi in commercio col nome di *Filmaron.*

Riporto l'analisi di Kraft:

Acido filicico	3,5 o/o
Acido flavaspidico	2,5 o/o
Albaspidina	0,05 o/o
Aspidinolo	0,1 o/o
Flavaspidinina	0,1 o/o
Filmaron	5 o/o

Quest' ultimo, che si presenta sotto forma di polvere amorfa di colorito giallo-paglia, con punto di fusione a 60°C, ha la formula chimica, secondo Kraft, $C_{32}H_{32}O_{32}$ ed è un composto dell' acido filicico.

Esso fu riconosciuto quale il principio più attivo del felce maschio, differenziandosi dall' acido filicico per la sua minore tossicità e per la sua stabilità chimica. Furono infatti anche di recente confermate le antiche ricerche di AUBEL (11)ì le quali avevano dimostrato che l'efficacia dell' acido filicico oltre ad essere in rapporto alla età del felce, all' epoca della sua raccolta ed a altri fattori, dipendeva essenzialmente dal suo stato chimico.

Esso si trova infatti, sotto due forme:

1) amorfo ($C_{35}H_{40}O_{13}$) attivo terapeuticamente e tossico;

2) cristallizzato (filicina di Trommsdorf $C_{35}H_{38}O_{12}$) che è l' anidride dell' acido amorfo, non tossico e inattivo.

E poichè il passaggio dall' uno all' altro stato avviene facilmente, ne derivano tutti gli inconvenienti dovuti all' impossibilità di potere stabilire, in modo esatto, la posologia del medicamento.

Per le ragioni suddette il Filmaron divenne subito oggetto specie di osservazioni cliniche egli studii a tal proposito di BRIEGER (12), ROBENSTEIN (13), CAVAZZANI (14), GANDINI (15), STRINGARI (16), NADEL (17) e di numerosi altri ancora, confermarono l' utilità del preparato senza pericolo di incorrere in inconvenienti spiacevoli.

Esso si mostrò' attivo in casi di tenia saginata, tenia solium botriocefalo, ascaridi, dando quasi sempre (16 volte su 23 nella statistica di BRIEGER) espulsione completa dei parassiti.

Anche con grande vantaggio fu adoperata in veterinaria ed in tal senso fanno fede gli studii di GMEINER (19) sui cani.

Essendo riuscito al Dott. FUMAROLA (*) d'isolare, con procedimenti che sono oggetto di sua pubblicazione, acido filicico e acido filmaronico allo stato di purezza, mi sono servito di essi per le presenti ricerche. L'acido filicico adoperato aveva il punto di fusione a 184°C. e l'acido filmaronico a 60°C. simili a quelli dati da altri A. per i due acidi puri.

II. — Tossicologia.

I casi di avvelenamento per estratto totale di rizoma di felce maschio, come già accennavo, non sono molto rari: POULSON (19) ne ha raccolto 66 dei quali 13 seguiti da morte.

Anche PALTAUF (20) riporta una ricca letteratura al riguardo: notevole che l' esito letale si è avuto spesso per somministrazione di soli pochi grammi d' estratto. Così nei casi di PALTAUF (20) furono sufficienti gr. 4-5 e in quelli di ERMAN e LORENZ (21) gr. 6.

La prima cosa che ho quindi voluto stabilire è stata la dose minima mortale per ciascuna delle due sostanze.

A tale uopo ho adoperato varie specie di animali (rane, rospi, cavie, conigli, cani) cui ho somministrato i due acidi con varie modalità.

Poichè da alcuni A. è sostenuto che in molti casi l'avvelenamento da estratto etereo di felce è dovuto alla contemporanea somministrazione di sostanze grasse (olio di ricino!) ho adoperato acido filicico e acido filmaronico sia disciolto in olio di ricino sia in soluzione alcalina di carbonato sodico al 10 % in proporzioni di un gr. di acido per cento che diluivo al millesimo.

Non ho potuto notare mai diversità di comportamento delle sostanze in rapporto al diverso solvente e non ho potuto perciò confermare le vedute di QURILL (22) nè quelle di POULSON (19) già confutate da JAQUET (23) e da LEICHTENSTERN (24).

Non trova quindi neanche ragione pratica il metodo di DRUKHAHN (25) che, somministrando acido filicico, allo scopo di evitare l'avvelenamento, cerca di mantenere il canale gastro-enterico quanto più è possibile esente da sostanze grasse o alcaline.

Nella tabella che segue raccolgo i risultari di numerose esperienze.

---

(1) Nel recentissino IV Congresso per Le Industrie Sanitarie a Torino, il Dott. Fumarola ha comunicato gli ottimi risultati ottenuti impiegando per primo l'acido filmaronico nella distomatosi epatica delle pecore. Il Prof. PARRONCITO nello stesso Congresso ha confermato la relazione del Fumarola che assume importanza pratica di grande valore.

Animali in esperimento.	Dose tossica mortale		Vi di somministrazione
	acido filma.	acido filicico in mmgr.	
1° Rana esculenta (peso medio gr.20)	0,002	0,001	Iniezione nel sacco linfatico dorsale.
2° Bufo vulgaris (peso medio gr.40)	0,003	0,002	Iniezione endoperitoneale.
3° Cavia (per kg.)	0,08	0,05	Iniezione sottocutanea.
4° Coniglio (per kg.) . .	0,15	0,15	Iniezione endovenosa.
5° Cane (per kg.)	0,5	0,3	Somministrazione in cachet per os.

Dalla tabella risulta che esiste una differente tossicità fra l' acido filicico e quello filmaronico.

Il primo, specie per le rane, si è mostrato ad azione più spiccata poichè a produrre la morte di una rana di gr. 20 occorrono gr. 0,001 mentre è necessaria una dose doppia ad ottenere il medesimo effetto con l' acido filmaronico.

Anche per quanto riguarda gli altri animali presi in considerazione esistono differenze tra le due sostanze ma meno apprezzabili.

Ho fatto astrazione nelle mie numerose ricerche di quelle variazioni che devono essere messe in rapporto alla diversa resistenza individuale in animali della stessa specie.

Non posso confrontare i miei risultati con quelli di altri ricercatori giacchè il POULSON ad es : pur avendo trovato che l'acido filicico è tossico per le rane alla dose di gr. 0,002 ha tralasciato di indicare il peso medio degli animali che adoperava. Così pure ha fatto il Gmeiner sperimentando il Filmaron nei conigli.

Un rilievo notevole è che le dosi tossiche per gli animali a sangue caldo sono maggiori, in senso assoluto, di quella degli animali a sangue freddo e tale differenza si spiega ammettendo, come opina GAGLIO (26) che negli organismi superiori la sostanza è più facilmente distrutta. Ma ciò che nelle linee fondamentali ho trovato simile a quella descritta da altri A. è la sintomatologia per avvelenamento acuto da acido filicico e filmaronico.

Queste due sostanze determinano lo stesso quadro tossico che brevemente riassumo.

Animali a sangue freddo. — Una rana che abbia ricevuto una dose di sostanza sufficiente a determinare la morte, per circa un' ora dall' iniezione conserva il suo aspetto normale. Poi poco a poco, cominciano disturbi della respirazione giacchè notasi dapprima polipnea, poi aritmia respiratoria e più tardi considerevole bradipnea.

Quasi contemporaneamente a tali disturbi si inizia uno stato di abbattimento nell' animale, il quale, pur reagendo, se toccato con acido acetico, messo sul dorso, solo a grandi stenti ripiglia la posizione ventrale ; all' astenia segue il periodo paralitico.

È appunto durante questo che si notano, di tanto in tanto, accessi convulsivi diffusi a tutti i muscoli del corpo : si tratta di convulsioni tonico-cloniche ed è considerevole durante queste la contrazione dei muscoli flessori degli arti superiori, specie nei maschi, nei quali, in rapporto alla funzione sessuale, essi hanno uno sviluppo maggiore degli antagonisti.

Nel periodo paralitico o durante un accesso convulsivo l'animale muore.

Se si apre rapidamente il torace si vede che il cuore, benchè con scarsa energia ed in modo aritmico, continua a pulsare per poi arrestarsi in diastole.

È notevole in questo avvelenamento la precoce rigidità cadaverica.

Animali a sangue caldo. — È quasi con la stessa sintomatologia che decorre l'avvelenamento acuto negli animali a sangua caldo.

In un primo periodo si notano fenomeni di agitazione : è evidente, specie nei cani, lo stato di eccitazione psichica : l'animale, infatti, grida ed è inquieto, segue poi, gradualmente, il periodo astenico più tardi quello paralitico. Se l'animale ha ricevuto la sostanza per os (cani) si ha spesso il vomito ed emissioni di feci liquide.

Come negli animali a sangue freddo vi sono fenomeni convulsivi cui segue la morte. Lo stato convulsivo è specialmente notevole nelle cavie nelle quali, anche durante l'accesso, ho potuto rilevare una temperatura rettale inferiore alla norma (25°C-24°C.). ciò che indica che le sostanze devono agire fortemente sui centri termoregolatori deprimendone l'attività.

ANATOMIA PATOLOGICA

Alla sezione di animali morti in seguito ad avvelenamento da acido filicico o filmaronico, si trova notevole iperemia di tutti gli organi specie di quelli addominali.

È frequentissimo il reperto di emorraggie meningee (LEWIN) e

costanti le lesioni renali già apprezzabili dal fatto che nelle urine, oltre ad epitelii dei diversi tratti canalicolari, si trova albumina.

Il fegato anch' esso risente l'azione deleteria del veleno ; è fortemente congesto e lo zucchero, che talvolta si mette in evidenza nelle urine, potrebbe essere in rapporto ad una lesione di esso.

Neanche in animali trattati relativamente a lungo abbiamo riscontrato la cirrosi atrofica del fegato descritta da qualche Autore ed attribuita ai principi attivi del felce maschio (GRAWITZ).

In conclusione nulla o quasi di specifico che possa farci stabilire, dal punto di vista anatomo-patologico, la sede elettiva d'azione delle sostanze.

SEDE D'AZIONE.

A determinarla ho eseguito ricerche collaterali che più appresso saranno riferite.

Le opinioni degli A. sono discordi e talora opposte sull' argomento.

Così STRAUB (27) sperimentando sugli echinodermi (gamberi, vermi, molluschi) ritenne che l'acido filicico agisse come un potente veleno muscolare. Alle stesse conclusioni giunse POULSON il quale ammise anche un' azione eccitante sul sistema nervoso centrale, sia sull' encefalo che sul midollo spinale.

HAUSMANN (28) attribuì invece quasi azione specifica delle sostanze sulle giunzioni neuro-muscolari, in analogia alla azione della Kosotossina ; v. AUBEL azione sul sistema centrale e sul simpatico avendosi così midriasi e spasmo delle arterie centrali della retina, onde amaurosi.

Poichè non risulta nettamente stabilito il modo di agire delle sostanze che ci occupano, ho cercato di portare un contributo al complesso argomento.

Le indagini sono state fatte su animali a sangue freddo e su quelli a sangue caldo. Ho adoperato la rana esculenta, il triton cristatus, il bufo viridis come animali a sangue freddo ; cani, conigli, cavie quali animali a sange caldo.

Riferisco, per brevità, solo una parte delle numerose esperienze eseguite.

ACIDO FILICICO.

ANIMALI A SANGUE FREDDO.

Esperimento 1°. Rana esculenta.

ore 9 Iniezione nel sacco linfatico di gr. 0, 001 di acido filicico (soluzione in carbonato sodico).

ore 10 Disturbi della respirazione ; l'animale e' gia' poco vivace.

ore 10,30 Lieve accesso convulsivo.

ore 10,40 Paralisi completa. Nuovo accesso convulsivo; notevole la contrazione dei flessori degli arti superiori.
ore 10,45 Sezione del midollo spinale sotto il bulbo. Paralisi flaccida completa. Gli arti superiori sono in lieve ipertonia.
ore 11,15 L'animale decede.

Esperimento 2°. Rana esculenta.

ore 13 Iniezione nel sacco linfatico dorsale gr. 0,001 di acido filicico.
ore 13,40 Evidenti i segni della paralisi : sezione del midollo sotto il bulbo.
ore 12 Paralisi flaccida e nessun accenno di convulsioni anche stimolando l'animale conacido acetico.
ore 15,30 L'animale muore.

Esperimento 3°. Bufo vulgaris.

ore 9 Iniezione di gr. 0,002 di acido filicico nel sacco linfatico dorsale.
ore 10,20 Evidenti i segni dell' astenia; l'animale messo sul dorso vi rimane immobile.
ore 10,30 Accesso convulsivo; sezione del midollo spinale sotto il bulbo.
ore 11 Pur rimanendo in modica flessione gli arti superiori non si nota più nessun accesso convulsivo.
ore 12 L'animale muore.

ACIDO FILMARONICO.

Esperimento 1°. Rana esculenta.

ore 9 Iniezioni di gr. 0,002 di acido filmaronico nel sacco linfatico dorsale.
ore 10,20 Cominciano i segni dell'astenia ; l'animale messo sul dorso vi rimane immobile.
ore 11 Stimolato non si osserva nessuno accesso convulsivo il quale invece appare spontaneamente alle ore 11,10.
ore 11,15 Sezione del midollo sotto il bulbo ; fino alla morte dell'animale non si osservano piu' fatti convulsivi.

Esperimento 2°. Rana esculenta.

ore 10 Iniezioni di gr. 0,002 di acido filmaronico nel sacco linfatico dorsale.
ore 11 L'animale ha gravi modificazioni del ritmo respiratorio.
ore 11,10 Sezione del midollo sotto il bulbo ; paralisi flaccida completa. Stimolando l'animale non si riesce a determinare nessuno accesso convulsivo.
ore 12 L'animale muore.

Esperimento 3°. Bufo vulgaris.

ore 13 Iniezione di gr. 0,003 di acido filmaronico nel sacco linfatico dorsale.
ore 13,10 L'animale presenta gia' i segni dell' astenia.
ore 13,30 Accesso convulsivo; sezione del midollo sotto il bulbo.
ore 13,40 L'animale e' paralizzato e non accenna più ad avere convulsioni anche se stimolato.
ore 14 L'animale muore.

Esperimento 4°. Bufo vulgaris.

Se si seziona prima il midollo, come negli esperimenti precedenti e poi si inietta acido filmaronico alle dosi sopradette, neanche si riesce a determinare lo stato convulsivo.

Dalle ricerche esposte risulta dunque che se negli animali a sangue freddo, nei quali già sono in atto le convulsioni a carattere tonico-clonico, determinate dall' acido filicico e dall' acido filmaronico, si seziona il midollo sotto il bulbo, pur resistendo in lieve grado una ipertonia nei muscoli degli arti superiori, non si presentano più accessi caratteristici, i quali sono per altro indipendenti, negli animali a connessioni nervose integre, da stimoli esterni.

Da questi rilievi appare dunque abbastanza evidente che il midollo spinale è estraneo allo stato convulsivo che non si verifica più se si interrompono le vie di conduzioni fra esso e i centri nervosi sovrastanti.

ANIMALI A SANGUE CALDO.

Analoghe ricerche, allo scopo di determinare la sede di azione delle sostanze che ci occupano sono state eseguite su animali a sangue caldo : ne riporto alcune.

ACIDO FILICICO.

Esperimento 1°. Cavia gr. 350.

ore 10 Iniezioni endoperitoniale di acido filicico di gr. 0,03 °/oo.
ore 12 Periodo astenico.
ore 14 Attacco convulsivo con forte opistotono.
ore 14,10 Sezione del midollo spinale tra la 5*a* e 6*a* vertebra dorsale. La parte posteriore, al disotto della sezione, rimane in paralisi flaccida nè reagisce anche per forti stimoli.
ore 14,20 L'animale ha convulsione del capo e degli arti anteriori ; il treno posteriore sempre immobile. Considerevoli disturbi della respirazione.
ore 14,40 L'animale muore.

All' autupsia trovo la sezione completa del midollo in corrispondenza della V e VI vertebra dorsale.

Esperimento 2°. Cavia di gr. 600.

Eseguo un altro esperimento come il precedente iniettando gr. 0,02 °/oo di acido filicico. Appena scoppiato l'accesso convulsivo seziono il midollo spinale fra IV e V vertebra : paralisi del treno posteriore ed emissione di feci.

Continuano gli accessi convulsivi del capo e della parte anteriore in connessione con i centri bulbo cerebrali. L'animale muore e l'autupsia conferma la sezione completa del midollo.

Esperimento 3°. Coniglio di gr. 200.

ore 11 Iniezione endovenosa di gr. 0,01 °/oo di acido filicico in carbonato sodico
ore 11,30 Sezione del midollo spinale tra la IV e V vertebra dorsale, paralisi immediata nel treno posteriore.

ore 11,45 Nuovo accesso convulsivo che riguarda peró solo il capo e gli arti inferiori.
ore 12,20 L'animale muore e l'autopsia conferma la sezione completa del midollo spinale.

Esperimento 4°. Cane di kg. 4.

ore 10 Taglio del midollo spinale tra 5ª e 6ª vertebra dorsale; paralisi del treno posteriore; l'animale si muove trascinando gli arti posteriori; emissioni di urine e di feci.
ore 10,20 Iniezione endoperitoniale di gr. 0,03 °/₀₀ di acido filicico.
ore 11 Convulsioni poco intense negli arti anteriori e del capo (opistotono).
ore 11,30 L'animale muore.

ACIDO FILMARONICO.

Esperimento 1°. Cavia gr. 400.

ore 11 Iniezione endoperineale gr. 0,03 °/₀₀ di acido filmaronico.
ore 13 L'animale è in convulsioni.
ore 13,5 Sezione del midollo spinale tra IV e V vertebra dorsale: paralisi flaccida del treno posteriore; forte accesso convulsivo dal capo e degli arti anteriori, notevole l'opistotono. Poco dopo morte; l'autopsia conferma la sezione completa del midollo.

Esperimento 2°. Cavia gr. 500.

Si ripete l'esperimento precedente con il medesimo risultato.

Esperimento 3°. Coniglio gr. 1200.

ore 10 Iniezione endovenosa di gr. 0,02 °/₀₀ di acido filmaronico.
ore 10,20 Accesso convulsivo.
ore 10,25 Sezione del midollo tra V e VI vertebra dorsale: paralisi del treno posteriore.
ore 10,45 Nuovo accesso della parte anteriore; anche per forti stimoli gli arti posteriori restano immobili.
ore 11,10 L'animale muore.

Esperimento 4°. Cagna kg. 4.

ore 14 Taglio del midollo tra IV e V vertebra dorsale: paralisi del treno posteriore.
ore 14,20 Iniezione endoperitoniale di gr. 0,05 °/₀₀ di acido filmaronico.
ore 15 Convulsioni degli arti anteriori e del capo il treno posteriore è immobile in paralisi flaccida.
ore 15,20 L'animale ha gravi disturbi della respirazione.
ore 15,30 L'animale muore.

L'autopsia conferma la sezione completa del midollo spinale.

Dagli esperimenti eseguiti, anche su animali a sangue caldo, risulta che le convulsioni non sono dovute ad azione degli acidi sul midollo spinale.

Se infatti si seziona il midollo quando già è in atto la convulsione o prima ancora della somministrazione della sostanza, si osserva *costantemente* la paralisi del treno posteriore che non ha più connessioni nè col bulbo nè con gli altri centri superiori cerebrali, mentre invece persistono le convulsioni degli arti anteriori e del capo.

Allo scopo di saggiare il comportamente dell' eccitabilità della corteccia cerebrale per azione degli acidi in esame, ho eseguito altre ricerche.

Dopo aver messo allo scoperto, previa asportazione dell' osso per trapanazione ed incisione della dura madre, con le modalità di tecnica note, il solco crociato e la circonvuluzione sigmoidea, determinavo, con la slitta di du Bois-Reymond l'intensità di corrente minima capace di dare l'attacco epilettoide.

Iniettavo quindi nell' auricolare acido filicico o acido filmaronico in soluzione alcalina e a diversi intervalli saggiava l'eccitabilità dei centri corticali.

Senza riferire per esteso gli esperimenti, dirò che l'eccitabilità corticale è di poco aumentata nel primo periodo dell' avvelenamento più tardi invece è diminuita e talvolta in modo considerevole.

III. — **Azione sul sistema cardio- vascolare.**

L'acido filicico è stato oggetto di studi anche per quanto riguarda la sua azione sul cuore sia in sito che isolato. Secondo HAUSMANN (28) per azione di esso vi è disturbo della coordinazione delle varie sezioni del cuore ; più tardi il muscolo cardiaco, perduto tutto il suo tono, si arresta in diastole.

POULSON (19) ammette tali modificazioni, ma accenna anche ad una considerevole bradicardia che si accompagnerebbe ad aritmia.

Inoltre, studiando l'azione dell' acido filicico anche sul cuore isolato, venne alla conclusione che l'atropina inibirebbe l'azione dell'acido filicico, ed ammise quindi un' azione della sostanza sui centri frenatoii intracardiaci.

Tali ricerche fino a questo momento non hanno avuto ulteriore conferma.

Poichè non è stabilito, in modo preciso, l'azione dell' acido filicico sul cuore, allo scopo di paragonarla con quella dell' acido filmaronico per nulla studiata da questo punto di vista, ho eseguito numerose esperienze su cuori di animali a sangue caldo e freddo.

Ho adoperato quali animali a sangue freddo rane e rospi registrando la grafica del cuore in sito secondo il dispositivo di Englemann, dopo aver sezionato il midollo sotto il bulbo.

Ne riferisco alcune :

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
11	56	9	
11,40	57	9	Iniezioni nel sacco linfatico di gr. 0,001 di acido filicico.
11,45	54	6	
12	44	5	Lieve prolungamento del periodo diastolico.
12,10	22	6	Considerevole aumento della grande pausa.
12,25	13	5	Gruppi di contrazioni ritmiche separate da lunghe pause diastoliche.

Esperimento 2°. Bufo vulgaris.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza dell pulsazioni in mm.	Osservazioni
11,30	84	7	
11,50	84	7	Iniezioni nel sacco linfatico gr. 0,001 di acido filicico.
12	68	11	
12,30	44	9	Aumento della grandı pausa.
14	16	8	Considerevole aumento del periodo diastolico.
14,10	10	8	
16,15	20	1	
16,17		—	Arresto in diastole.

Esperimento 3°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
13,30	94	7	
13,40	—	—	Iniezione nel sacco linf. di gr. 0,0005 di acido filicico.
13,50	86	8	
14,10	66	9	Aumento della grande pausa.
14,40	40	9	
15	26	8	Considerevole aumento della grande pausa.
15,30	18	5	
16	12	—	Disturbi dell'energia di contrazione. Arresto in diastole.
16,40	—	—	

Esperimento 4°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60"	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
10	79	6	
10,5	—	—	Iniezione nel sacco linf. gr. 0,0002 di acido filicico.
10,15	79	6	
10,40	64	7	
11	60	6	
12	54	7	
13	60	6	
14	65	6	
15	68	8	Si sospende l'esperimento.

Esperimento 5°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60"	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
15,30	84	7	
15,40	—	—	Iniezione nel sacco linf. gr. 0,00015 di acido filicico.
15,50	83	8	
16	80	8	
16,30	73	8	
17	75	7	
18	77	8	
20	79	7	

Il giorno seguente il cuore pulsa ancora con ritmo ed ampiezza quasi normale.

Esperimento 6°. Rana esculenta atropinizzata e smidollata.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
15,10	55	8	
15,15	—	—	Iniezione nel sacco linf. di gr. 0,001 di acido filicico.
15,30	50	8,5	
16	47	8	
16,30	34	8	
17	36	7	Sospendo l'esperienza.

Esperimento 7°. Rana esculenta atropinizzata e smidollata.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
11	76	5	
11,5	—	—	Iniezione nel sacco linf. di gr. 0,001 di acido filicico.
11,30	60	6	
11,35	60	5	
11,50	62	7	
12,30	64	7	

Esperimento 8°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
18,10	84	7	
18,13	—	—	Iniezione nel sacco linf. di gr. 0,0005 di ac. filicico.
18,15	80	7	
18,30	75	8	
18,40	70	8,3	Iniezione endoperironeale di gr. 0,00001 di solfato neutro d'atropina. 1 : 30.000.
19	70	8	
20	63	7	
21	69	7,3	Si sospende l'esperimento

Da tutti gli esperimenti che ho riferito risulta chiaramente che l'acido filicico induce considerevoli modificazioni della funzione cardiaca.

Esse consistono in un primo momento, a breve distanza dell'iniezione dell' acido filicico, già alle dose di gr. 0,0005, in una rarefa-

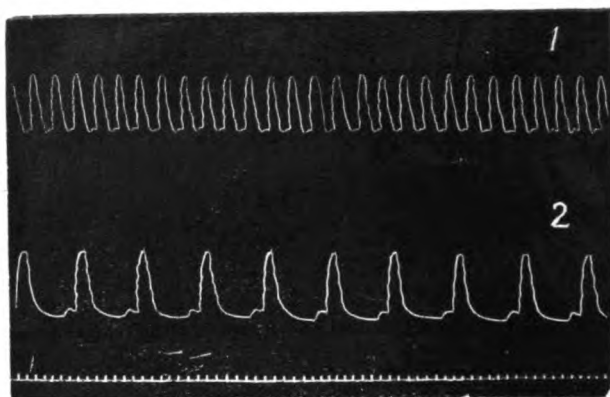



Figura 1. Cuore di rana all' Engelmann. In 1 normale in 2 30' minuti dopo inezione endop. di gr. 0,001 di acido filicico. Tempo = 1''.

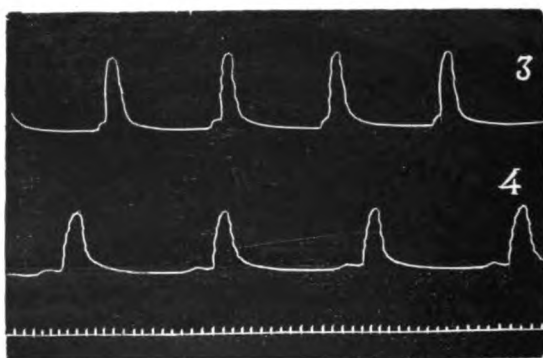



Figura 2. Le stesso cuore della figura 1. In 3) un' ora dopo l'iniezione ; in 4) un' ora ½ dopo l'iniezione. Tempo = 1''.

zione delle pulsazioni per aumento del periodo diastolico ed aumento dell' ampiezza di esse.

Il numero delle pulsazioni diminuisce gradatamente fino ad aversi poche rivoluzioni cardiache nella unità di tempo mentre anche l'ampiezza di esse si riduce ; e infine, dopo disturbi del ritmo e dell'energia di contrazione, il cuore si arresta in diastole. (fig. 1-2).

Negli animali atropinizzati ed in quelli nei quali essendosi già iniziati i disturbi suddetti, ricevono atropina, si nota che l'acido filicico

agisce meno intensamente sul numero delle pulsazioni ; il che, mentre da un lato fa escludere che l'atropina inibisce l'azione di esso, dimostra pure che esso agisce sui centri intracardiaci frenatori ma specialmente sulle fibre proprie del miocardio.

ACIDO FILMARONICO.

Per l'acido filmaronico le ricerche sui singoli organi sono molte scarse e, a quanto sappia, non ve n' è nessuna sperimentale che riguarda l'apparecchio cardiovascolare.

Per tali rilievi ho eseguite ricerche analoghe a quelle per l'acido filicico.

Esperimento 1°. Rana esculenta.

Te po	Numero delle pulsazioni in 60''	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
10,40	90	3	
10,50	--	--	Iniezione nel sacco linf. di gr. 0,002 di acido filmaronico.
11,5	64	4	
11,55	22	4	Aumento della grande pausa.
12,20	18	—	Disuguaglianza d'ampiezza ed aumento ancora della grande pausa.
15	—	—	Arresto in diastole.

Esperimento 2°. Bufo vulgaris.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60''	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
10,40	96	6	
15,45	—	—	Iniezione nel sacco linf. di gr. 0,004 di acido filmaronico.
16	58	7	
16,25	34	5	Aumento della grande pausa.
17	26	4	
18	12	3	
18,30	14	2	Arresto in diastole.

Esperimento 3°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
12,30	72	6	
12,50	—	—	Iniezione nel sacco l'inf. di gr. -0,001
13	64	7	
13,30	36	5	Aumento della grande pausa. di acido filmaronico.
15	18	6	
16	—	—	Gravi alterazioni del ritmo e della ampiezza delle pulsazioui. Si sospende l'esperimento.

Esperimento 4°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
17	84	5	
17,5	—	—	Iniezione nel sacco linf. di gr. 0,0005 di acido filmaronico.
17,30	70	6	
17,45	72	6	
18,15	67	5	
18,45	73	7	
19	70	6	
20	70	7	Si sospende l'esperimento.

Esperimento 5°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
10	72	4	
10,5	—	—	Iniezioni nel sacco linf. gr. 0,0003 di acido filmaronico.
10,15	70	5	
10,30	68	6	

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
10,45	68	6	
11,45	66	5	
11.45	67	5	
15	68	6	
16	67	5	Si sospende l'esperimento.

Esperimento 6°. Rana esculenta atropinizzata e smidollata.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm.	Osservazioni
11,30	90	6	
11,35	—	—	Iniezione nel sacco linfatico di gr. 0,002 di acido filmaronico.
11,45	83	7	
12	81	6	
12,30	75	6	
13	64	6	
14	55	7	Aumento del periodo diastolico.
15	56	6	Si sospende l'esperimento.

Esperimento 7°. Rana esculenta.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Ampiezza delle pulsazioni in mm	Osservazioni
17	84	6	
17.5	—	—	Iniezione nels accolinf. di gr. 0,0015 di acido filmaronico.
17.30	73	7	
18	65	7	
18,15	60	6,5	Iniezione endoperitoneale una goccia di solfato di atropina 1 : 1000.
19	63	7	
20	65	7	Si sospende l'esperimento.

Anche l'acido filmaronico, benchè a dosi più elevate (gr. 0,001 ciò che dimostra la sua minore tossicità sul sistema cardio-vascolare) come l'acido filicico produce: in un primo tempo bradicardia con

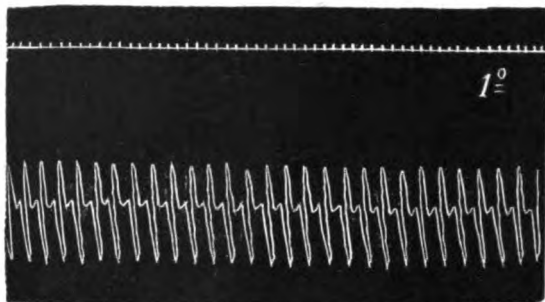



Figura 3. Cuore di rospo all' Engelmann. Tracciato normale Tempo = 1″

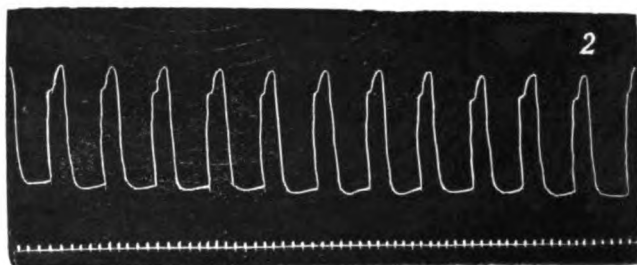



Figura 4. Un' ora dopo iniezione endoperitoneale di gr. 0,0015 di acido filmaronico. Tempo = 1″.

rinforzo delle sistole (figura 3 e 4) più tardi aritmia e considerevole diminuizione dell' ampiezza delle contrazioni. Negli animali atropinizzati si hanno gli stessi fatti, ma con intensità minore, ciò che dimostra l'azione duplice della sostanza sia sui centri intracardiacii inibitori che sulla fibra muscolare propriamenta detta.

ANIMALI A SANGUE CALDO.

Mi sono valso degli stessi esperimenti, in questi animali, per giudicare l'azione dell' acido filicico e filmaronico sul cuore e sulla pressione. Per quanto si riferisce a questa ultima, ricerche sperimentali non mi risulta vi siano; solo nella monografia completa sull' argomento, nella raccolta di HEFTER, STRAUB (27) accenna alla scarsa azione che l'acido filicico ha su di essa. Durante il periodo convulsivo dell' avvelenamento vi sarebbe un lieve aumento, ipotensione invece poco prima della morte. Notizie di nessun genere abbiamo d'altra parte per l'acido filmaronico per cui ho condotto, per entrambe le sotanze diversi esperimenti.

Per eseguirli mi sono valso di cani di peso medio (da 5 a 7 kg.) ai quali, dopo aver somministrato una piccola dose di morfina, preparavo la carotide di un lato e la giugulare dal lato opposto,

Il moncone centrale dell' arteria veniva connesso con un manometro a mercurio del tipo Ludwig, munito di una penna ad inchiostro scrivente su di un chimografo a carta continua.

Quale anticoagulante ho adoperato una soluzione satura di solfato di magnesio tiepida.

Dopo aver preso il tracciato normale, iniettavo il liquido da sperimentare nella giugulare lentamente e sempre con la stessa velocità.

Riporto alcune delle esperienze eseguite.

ACIDO FILICICO.

Esperimento 1°. Cane di kg. 6. Manometro in connessione con la carotide sinistra.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
13	130	104	
13,5	—	—	Iniezione endovenosa di gr. 0,001° /oo di acido filicico.
13,6	—	—	La pressione rapidamente si abbassa: in modo progressivo diminuisce anche l'ampiezza delle pulsazioni il cui ritmo rimane costante.
13,15	—	—	Sospendo l'esperienza.

In questo esperimento si nota che l'acido filicico iniettato alla dose di gr. 0,01 °/oo per via endovenosa dà un rapido abbassamento delle pressione del sangue, che s'accompagna ad aumento delle pulsazioni cardiache la cui ampiezza tende a diminuire.

Esperimento 2°. Cane di kg. 7. Manometro in connessione con la carotide sinistra.

Tempo	Nnmero delle pulazioni in 60″	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
14,30	66	92	
14,35	—	—	Iniezione endovenosa di gr. 0,005 ° /oo di acido filicico.
14,36	69	30	Pressione considerevolmente bassa.
14,38	53	90	La pressione gradatamente si innalza.
14,41	50	91	
14,45	43	92	
13	—	—	Sospendo l'esperienza.

In questa esperienza si nota che l'acido filicico alla dose di gr. 0,0005 ‰ abbassa considerevolmente la pressione la quale, però. presto ritorna alla norma.

Il numero delle pulsazioni aumenta in un primo momento per poi diminuire dopo un certo tempo.

Esperimento 3°. Cane di kg. 6. Manometro in connessione con la carotide sinistra.

Tempo	Nnmero delle pulsazion in 60″	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
15,20	148	136	
15,22	—	—	Iniezione endovenosa di gr. 0,0025 ‰ di acido filicico.
15,23	180	72	
15,26	166	116	
15,26′30″	138	149	Si sospende l'esperimento.

L'acido filicico anche alla dose di gr. 0,0025 ‰ produce le stesse modificazioni, d'intensità alquanto minori di quelle precedentemente notate.

Esperimento 4°. Cane kg. 9. Manometro in connessione con la carotide destra.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Pressione media in mm Hg.	Osservazioni
11	57	132	
11,5	—	—	Iniezioni di gr. 0,002 ‰ di acido filicico.
11,5′30″	66	84	
11,6	60	116	
11,7	—	—	Taglio dei vaghi al collo e respirazione artificiale.
11,8	80	94	Iniezione di gr. 0,002 ‰ di acido filicico.
11,8′30″	73	125	
11,10	76	135	
11,25	62	134	Sospendo l'esperienza.

Da questo esperimento si deduce che l'acido filicico alla dose di gr. 0,0025 °/₀₀ produce sempre abbassamento della pressione arteriosa, la quale s'accompagna, sia negli animali a vaghi integri sia in quelli a vaghi tagliati, in un primo momento, a tachicardia cui segue bradicardia.

La ipotensione che si determina nell' un caso e nell' altro è di breve durata.

Esperimento 5°. Cane kg. 5 Manometro in connessione con la carotide destra taglio dei vaghi ed atropinizzazione, respirazione artificiale.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
9	108	1120	
9,2	125	90	Iniezioni di gr. 0,0025 °/oo di acido filicico.
9,3	128	115	
9,4	—	—	Inietto ancora gr. 0,0025 °/oo di acido filicico.
9,4′39″	—	—	Inietto una goccia di adrenalina all'uno per mille. La pressione s'innalza rapidamente.
9,6	—	—	Sospendo l'esperienza.

Dall' esperienza riferita si desume che nell' animale a vaghi sezionati ed atropinizzato l'acido filicico induce trachicardia ed abbassamento della pressione ; l'ampiezza delle pulsazioni, benchè lievemente, tende ad aumentare. Per azione anche di minime dosi d'adrenalina l'ipotensione è sostituita da ipertensione.

Esperimento 6°. Cane di kg. 8 Taglio del midollo spinale sotto il bulbo ; manometro in connessione con la carotide sinistra ; respirazione artificiale.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
10	130	140	
10,3	—	—	Iniezione endovenosa di gr.0,0025 °/oo di acido filicico.
10,3′30	118	142	
10,5	110	136	Iniezione endovenosa di gr. 0,005 di acido filicico.
10,11	—	200	Iniezione di una goccia di adrenalina nella giugulare.
10,15	—	—	Sospendo l'esperienza.

Questo esperimento ci fornisce dei dati assai importanti; esso dimostra infatti che l'acido filicico iniettato anche nella dose cumulativa di gr. 0,0075 ‰ non modifica, a midollo spinale reciso la pressione arteriosa, la quale già ala dose di gr. 0,0025 ‰ è considerevolmente abbassata negli animali a midollo integro.

Il numero delle pulsazioni tende a diminuire e i gravi fatti di aritmia devono essere messi in rapporto alla dose tossica iniettata.

L'adrenalina somministrata per via endovenosa anche a dosi tenui, esplica immediatamente la sua azione ipertensiva.

ACIDO FILMARONICO.

In un altra serie di esperimenti ho voluto studiare l'azione dell'acido filmaronico sulla pressione eseguendo ricerche analoghe a quelle riferite per l'acido filicico.

Esperimento 1°. Cane di kg. 8. Manometro in connessione con la carotide destra.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
15	130	96	
15,3	—	—	Iniezione endovenosa di gr. 0,01 ‰ di acido filimaronico.
15,3′45″	140	70	
15,5	130	94	

Da questa esperienza risulta che gr. 0,01 ‰ di acido filmaronico determinano abbassamento della pressione arteriosa e aumento delle pulsazioni cardiache; l'ipotensione è transitoria.

Esperimento 2°. Cagna di kg. 9. Manometro in connesione con la carotide destra.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60″	Pressione media in mm Hg.	Osservazioni
15	90	120	
15,3	—	—	Iniezione endovenosa di gr. 0,0003 ‰ di acido filmaronico.
15,5′30″	103	110	
15,5	—	—	Iniezione endovenosa di acido filmaronico c. s.
15,5′39″	109	105	
16	99	120	
16,15	81	121	

Dall' esperimento riferito appare evidente che l'acido filmaronico alla dose di gr. 0,003 ‰ abbassa di poco la pressione arteriosa la quale rapidamente torna al normale. Tale ipotensione s'accompagna a tachicardia, cui segue, tornata la pressione alla norma, modica bradicardia.

Esperimento 3°. Cane kg. 6. Manometro in connessione con la carotida destra.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60"	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
11	75	125	
11,6	90	100	Iniezione di gr. 0,005 ‰ di acido filmaronico.
11,8	9	120	
11,10	—	—	Taglio dei vaghi al collo; respirazione artificiale.
11,15	95	136	
11,10	—	—	Iniezione di gr. 0,005 ‰ di acido filmaronico.
11,16'30"	100	105	
11,17	91	119	
11,19	—	—	Si sospende l'esperimento.

Da questo esperimento si ricava che l'acido filmaronico alla dose di gr. 0,005 ‰ determina abbassamento della pressione arteriosa la quale s'accompagna, a vaghi integri, o recisi ad aumento del numero delle pulsazioni.

Esperimento 4°. Cane di kg. 6. Manometro in connessione con la carotide sinistra. Taglio dei vaghi ed atropinizzazione ; respirazione artificiale.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60"	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
9	100	94	
9,3	120	80	Iniezione di gr. 0,005 ‰ di acido filmaronico.
9,3'30"	118	87	
9,6	—	—	Iniezioni di gr. 0,005 ‰ di acido filmaronico e di una goccia di adrenalina.
9,6'30"	125	130	
9,8	—	--	Si sospende l'esperienza.

Dall' esperimento riferito appare chiaro che l'atropinizzazione ed il taglio dei vaghi non inibiscono che in misura trascurabile l'azione ipotensiva dell' acido filmaronico che è del tutto annullata anche da piccole dosi di adrenalina.

Esperimento 5°. Cane di kg. 7. Manometro in connessione con la carotide destra. Sezione del midollo spinale sotto il bulbo ; respirazione artificiale.

Tempo	Numero delle pulsazioni in 60"	Pressione media in mm. Hg.	Osservazioni
10	100	96	
10-5	—	—	Iniezione endovenoza di gr. 0,005 °/oo di acido filmaronico.
9,5'30"	98	94	
9,6	96	93	Iniezione di acido filmaronico c. s.
9,8	--	-	Iniezione di gr. 0,01 °/oo di acido filmaronica.
9,8'36"	90	90	
9,9	—	—	Iniezione di una goccia di adrenalina nella giugulare. La pressione rapimente si innalza. Sospendo l'esperimento.

Analogamente a ciò che si ha per l'acido filicico, l'acido filmaronico, anche iniettato a dosi di gr. 0,02 ‰ non determina alcuna modificazione apprezzabile della pressione arteriosa negli animali a midollo spinale sezionato. Trattasi dunque di una azione sul centro vasomotore ; il numero delle pulsazioni tende rapidamente a diminuire.

Dalle ricerche riferite, sia per quanto riguarda l'acido filmaronico che quello filicico, si desume che entrambe le sostanze, pur variando le dosi, determinano, nelle linee generali, la stessa azione sul sistema cardiovasolare.

Essa consiste, negli animali a sangue freddo, in una bradicardia la quale si accompagna a rinforzo della sistole. Tali fatti, per gli esperimenti riferiti, deve essere attribuito ad un duplice meccanismo : ad un' azione, cioè, eccitante dei centri inibitori intracardiaci e, più ancora, ad un' azione diretta, anch' essa eccitante, almeno in primo momento, sulla fibra muscolare del cuore.

Negli animali a sangue caldo le cose stanno negli stessi termini. Infatti, se pure iniettando le sostanze che ci occupano, si determinano, in un primo momento, tachicardia, ciò deve attribuirei all' ipotensione imponente che, specie l'acido filicico, è capace di dare, ipotensione, che come abbiamo dimostrato, è di origine centrale.

Cessata questa, le pulsazioni dapprima tornano alla norma e poi tendono a diminuire, comportandosi così come negli animali a sangue freddo.

La prova evidente che la tachicardia è in rapporto alla ipotensione l'abbiamo nel fatto che nell' animale a midollo spinale sezionato, nel quale le sostanze non modificano la pressione, la bradicardia si manifesta quasi immediatamente.

Cuore isolato di mammifero. Per completare lo studio dell' acido filicico e filmaronico sull' apparecchio cardio-vascolare, ho eseguito con essi ricerche sul cuore isolato. Mi sono valso a tale scopo di conigli di peso medio (kg. 1-1,300) i quali, come è noto, sono i migliori a tale scopo ed ho adoperato l'apparecchio di LANGENDORF-HERLITKA. Il liquido nutrizio era RINGER-LOCKE ossigenato a saturazione; la temperatura 32°C. e la pressione sotto cui circolava il liquido 50 mm.Hg.

Le sostanze da esaminare, già sciolte in soluzione di carbonato di soda al 10 % erano diluite con Ringer sino ad ottenere le concentrazioni volute.

Senza riportare i protocolli sperimentali riassumero i risultati delle mie ricerche.

Sia l'acido filicico che quello filmaronico — analogamente a ciò che si verifica nei cuori in sito — determinano diminuzione del numero delle pulsazioni; tali fatti si verificano per l'acido filicico già alla

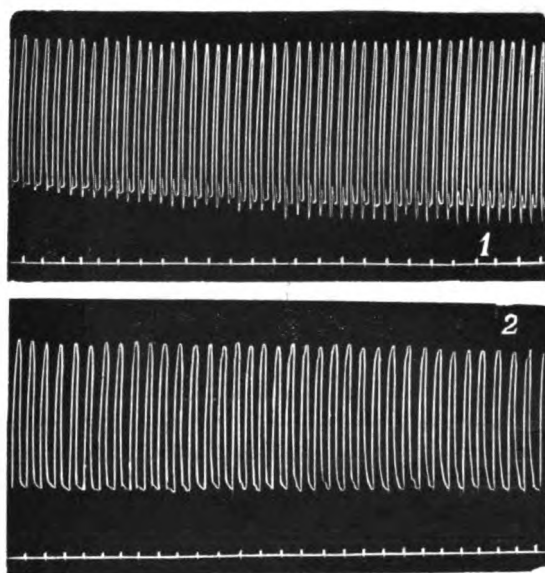



Fig. 4. Cuore irolato di cenglio. 1° Tracciati normale; 2° dopo passaggio di acido filicico diluizione 1:50.000. Tempo = 1''.

diluizione 1:50.000 (fig. 4) mentre occorrono diluizioni più concentrate per l'acido filmaronico.

Se la concentrazione aumenta allora si ha l'azione tossica della sostanza: ossia aritmia, diminuizione dell' ampiezza e disuguaglianza

di esse, fatti però che almeno in parte cessano per prolungato passaggio di Ringer (fig. 5).

Se si lascia agire l'atropina si hanno gli stessi fatti ma un pò meno intensi ciò che dimostra solo la parziale azione delle sostanze sui centri inibitori.

Queste ricerche confermano l'ipotesi già da noi esposta che sia

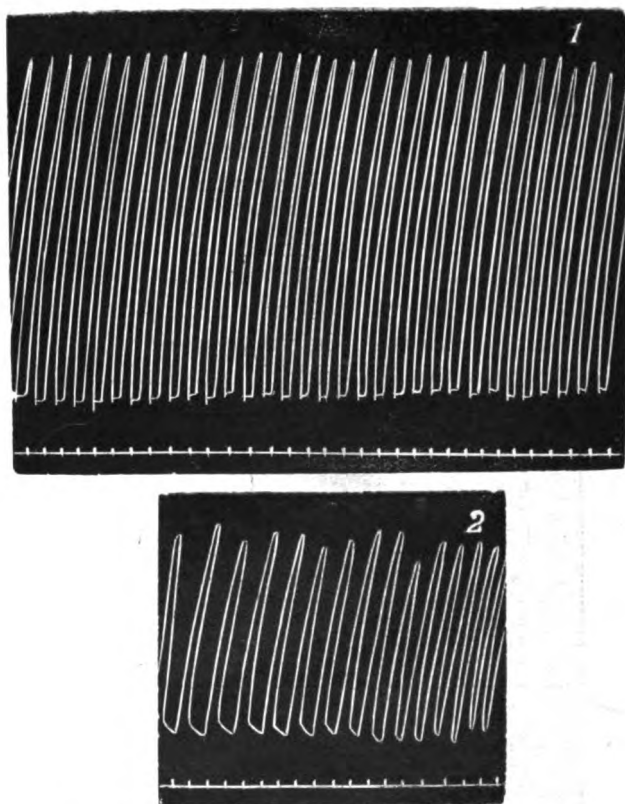



Fig. 5. Cuore isolato di ceniglio. In 1 tracciato normale; 2) dopo passaggio di acidofilicico diluzioni 1:20.000. Tempo = 1''.

l'acido filicico che quello filmaronico hanno azione spiccata sulla fibra cardiaca, eccitandola a piccoli dosi, avvelenandola e paralizzandola a dosi alte.

IV. — Azione sui muscoli isolati.

Le ricerche che riguardano l'azione dell' acido filicico sui muscoli sono numerose.

Straub (27) ritenne tale sostanza un potente veleno di essi e ne fornì la prova dimostrando la sua grande tossicità verso i molluschi

i gamberi, i lombrichi, che sono tutti, come è noto, animali molto ricchi di fibre muscolari lisce.

Anche POULSON (19) si occupò dell' argomento e per quanto si riferisce ai muscoli striati pervenne alla conclusione che essi sono poco sensibili all' azione dell acido filicico. Anche, infatti, se avvelenati con tale sostanza, conservano inalterata l'eccitabilità alla corrente d'induzione ed anche la sensibilità alla scossa di apertura e chiusura alla corrente galvanica.

Mancano invece, a quanto sappia, ricerche che si riferiscono all'acido filmaronico, ed è appunto per tale ragione che,servandomi di pezzi di organi a fibre muscolari lisce ho eseguito una duplice serie di ricerche l'una che si riferisce all' azione dell' acido filicico l'altra a quella dell' acido filmaronico.

Azione sull' intestino. Come risulta specialmente dalle osservazioni di Magnus, l'intestino di un animale appena sacrificato, se messo in Ringer ossigenato continuamente e tenuto a 37°C. è capace, dopo che si è adattato, di dare un numero di oscillazioni le quali possono registrarsi con apposito dispositivo.

Tali oscillazioni pare che siano in rapporto alla presenza del plesso di Auerbach.

Acido filicico. — Ho voluto studiare il comportamento dell'intestino in presenza dell' acido filicico ed ho adoperato, a tale scopo, l'intestino tenue di cani e di conigli.

Se al Ringer, nel quale trovasi immerso il pezzo d'organo che già si contrae, si aggiunge acido filicico in soluzione alcalina di carbonato sodico al 10 % in proporzioni tali da raggiungere la diluizione 1:100000, si notano subito le seguenti modificazioni:

In un primo momento e dopo appena qualche minuto dell' aggiunta della sostanza, il tono muscolare si abbassa leggermente. A questa ipotonia, che però non è costante, segue una graduale ipertonia, mentre le contrazioni si fanno più piccole.

Infine continuando la sostanza ad agire si determina una vera contrattura ed indi la morte (fig. 6).

Se la diluizione dell' acido si porta a 1:150000 il muscolo si contrae meglio, l'ampiezza delle contrazioni aumenta e così pure il numero di esse e il tono. Tali fatti persistono a lungo senza altre modificazioni considerevoli. La presenza dell' atropina, prima o dopo l'aggiunta dell' acido filicico, non modifica l'azione suddetta.

Acido filmaronico. — I risultati sono sotanzialmente gli stessi sperimentando con acido filmaronico. La differenza essenziale sta nel fatto che esso agisce già alla diluizioni di 1:160000 ed oltre mostrandosi quindi più attivo dell' acido filicico.

Esofago di rospo. — Ho adoperato l'esofago di bufo vulgaris il quale è costituito, prevalentemente, da fibre longitudinali. L'esperienza

era fatta a 18°C. il liquido nutritivo era Ringer per animali a sangue freddo.

Sia l'acido filicico che quello filmaronico si sono comportati come sull' intestino, sia per quanto si riferisce all' azione che alla dosi.

Fig. 6. Intestino tenue di coniglio. In X acido filicico 1:100.000. Tempo = 1'.

Utero. — Quest' organo si è mostrato più sensibile all' azione dell' una e dell' altra sostanza. L'acido filicico alla diluizione di

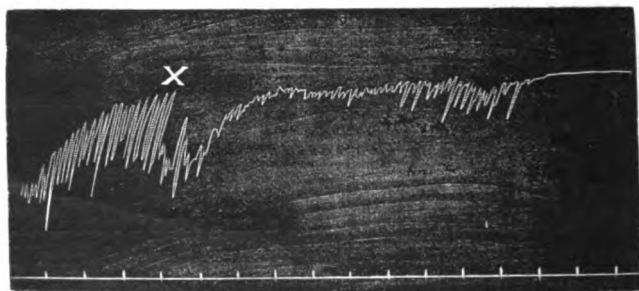



Fig. 7. Utero di coniglia. In X acido filmaronico 1:150.000. Tempo = 1'.

1:100000 determina, quasi immediatamente la morte del muscolo; così pure l'acido filmaronico alla dose di 1:150000. (Fig. 7). Per ottenere le stesse azioni osservate sull' intestino e sull' esofago è necessario adoperare il primo a diluizione di 1:150000 ed il secondo di 1:200000. Non ho potuto notare variazioni apprezzabili fra uteri gravidi e vergini dei varii animali da me adoperati.

Arterie. — In ultimo ho voluto saggiare l'azione dell' acido filicico e di quello filmaronico sulle arterie.

Queste, come è noto, sopravivono se tenute in Ringer ossigenato a 37°C. Esse però non danno vere oscillazioni ed è soltanto possibile osservare le modificazioni del tono. Le sostanze che ho adoperato, analogamente a ciò che abbiamo riferito per l'intestino, modificano il tono aumentandolo dopo averlo, talvolta, prima depresso.

Delle ricerche eseguite si deduce che l'acido filicico e l'acido filmaronico agiscono sui muscoli lisci determinando a dosi diverse, variazioni che possono ridursi alle seguenti: l'acido filicico alla diluizione di 1:100000, l'acido filmaronico a quella di 1:160000 determinano aumento del tono, diminuizione delle ampiezze delle contrazioni ed infine contrattura e morte. Se le concentrazione aumenta la morte del muscolo è quasi immediata; nel caso contrario invece, si osserva aumento del numero e dell' ampiezza delle pulsazioni con ipertonia senza altre notevoli modificazioni.

Fatti questi rilievi sui muscoli isolati era necessario stabilire se l'azione delle sostanze si esplicasse sulla fibro-cellula muscolare ovvero sul plesso di Auerbach. Per risolvere, sia pure parzialmente, la questione ho ripetuto esperimenti analoghi a quelli riferiti sul retractor penis del cane.

Questo muscolo, come da ricerche del BOTTAZZI (30) è, almeno istologicamente, privo di cellule nervose gangliari e le sue contrazioni quindi sembrano, sempre secondo il BOTTAZZI, non di natura neurogena gangliare. Anche CHISTONI (31) allo scopo di determinare la sede d'azione dei sali di bario sull' intestino isolato si è servito del muscolo suddetto, ritenendolo privo d'elementi nervosi gangliari. Ho quindi escisso il retractor penis e tenendolo alla temperatura di 30°C. nella camera umida di BOTTAZZI ho fatto agire su di esso acido filicico rispettivamente e acido filmaronico.

I risultati sperimentali, che per brevità non trascrivo, sono identici a quelli ottenuti per gli altri organi a fibre muscolari lisce ed è conservata fra le due sostanze la diversa intensità d'azione poichè l'acido filmaronico si è dimostrato più attivo (1:160000) dell' acido filicico (1:90.000). Si tratta quindi. almeno in gran parte, probabilmente di un' azione diretta delle sostanze sulla fibra muscolare.

V. — Azione sui lombrichi di terra.

In un' ultima serie di ricerche ho voluto studiare l'azione delle due sostanze sui lombrichi di terra. Già altri ricercatori (STRAUB, POULSON, etc.) hanno messo in evidenza quanto esse siano tossiche per questa specie di animali inferiori.

La tenia del gatto — ad esempio — muore già in una soluzione di

acido filicico al 0,01 %. STRAUB ha studiato anche la tossicità' dell'acido filicico iniettandolo a piccolissime dosi nei lombrichi. Egli ha potuto osservare che alla paralisi, localizzata in un primo momento al punto dell' iniezione, segue la generalizzazione di essa ed infine l'animale muore.

Almeno in un primo momento le connessioni nervose restano integre giacchè stimoli elettrici dell' estremità caudale hanno risposta all' estremità craniale.

Più tardi però ciò non si verifica più e la paralisi invade anche gli elementi nervosi, secondo STRAUB, per assorbimento del veleno.

Ho voluto anch' io far qualche ricerca sul Lombricus agricola e precisamente ho studiato l'azione dell' acido filicico e filmaronico :

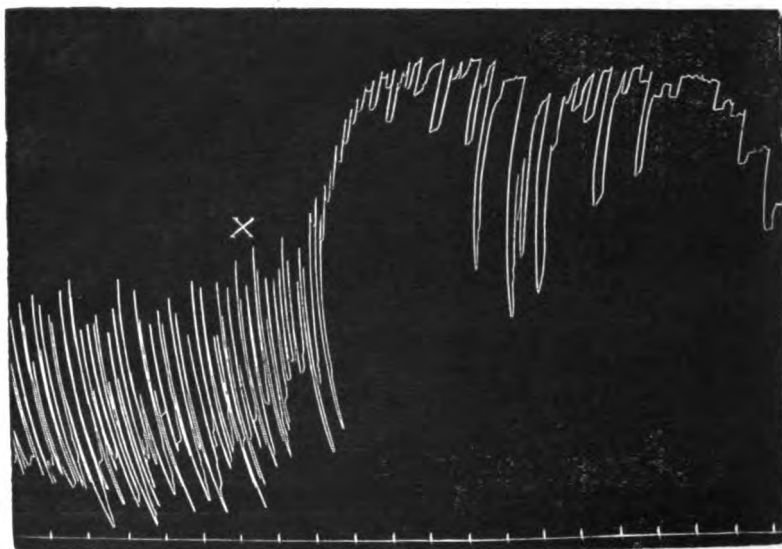



Fig. 8. Sigurgnto mediano di eombricus agricula. In X acido filmaronico 1:16.000. Tempo = 1'.

1) aggiungendo le sostanze al liquido indifferente nel quale gli animali vivevano ; 2) iniettando le sostanze agli animali vivi ; 3) infine facendole agire su segmenti di lombrichi isolati in vitro.

Per quanto si riferisce alla prima ricerca dirò subito che, analogamente ad altri ricercatori, ho trovato un' elettività squisita dell' acido filicico e filmaronico sui lombrichi. Se si aggiunge ad acqua di fonte leggermente tiepida, ove i lombrichi vivono bene ed a lungo, muovendosi con una certa regolarità, acido filmaronico alla dose di gr. 0-01 %₀ essi mostrano immediatamente movimenti irregolari ; si contorcono fortemente e restanoa vvolti su sestessi. Segue poi, ben presto, ineccitabilità anche a forti stimoli e poco dopo la morte.

In circa mezz' ora, alla concentrazione suddetta, l'acido filmaro-

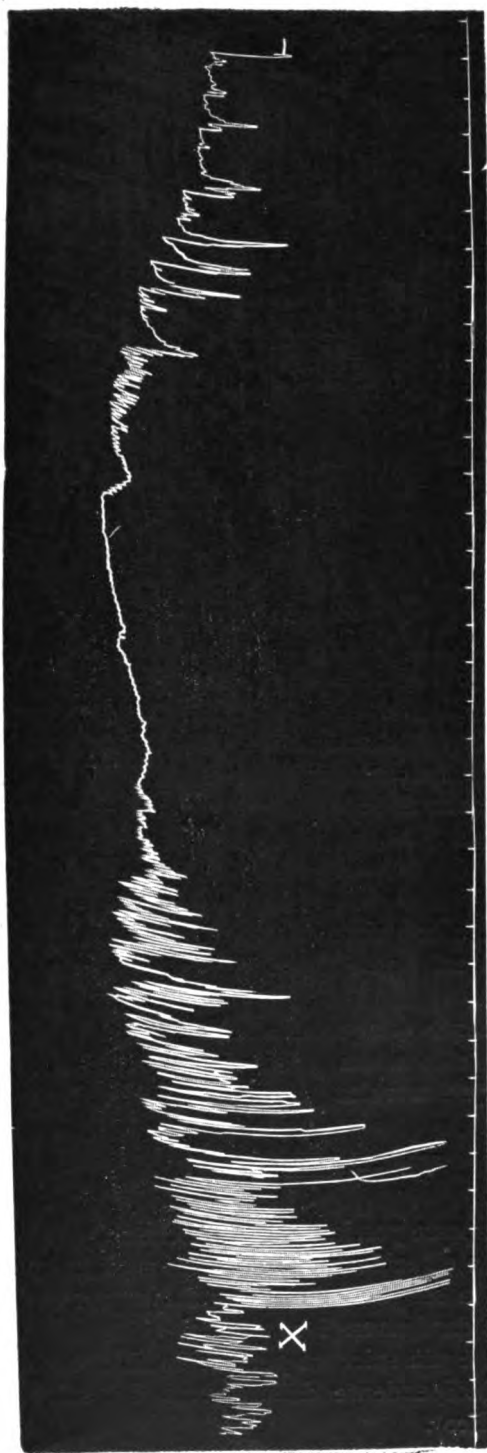



Fig. 9. Sigmento mediano di combricus agricula. In X acido filmaronico 1:12.000. Tempo = 1'.

nico uccide sicuramente i lombrichi. Nelle stesse proporzioni invece l'acido filicico, pur determinando un lieve stato d'agitazione, riesce del tutto innocuo, potendo i lombrichi in esso vivere bene anche per parecchie ore. Ad ottenere la morte *in circa un' ora* occorrono diluizioni non inferiori a gr. 0,02 %, dosi cioè doppie di quelle dell' acido filmaronico.

Ripetendo l'esperimento di STRAUB, iniettando cioè nel lombrico frazioni di mmg di acido filicico e di acido filmaronico ho potuto notare, in un primo momento, paralisi parziale ed eccitabilità trasmessa degli stimoli elettrici, più tardi paralisi totale, ineccitabilità e perdita completa del tono muscolare per cui l'animale assume l'aspetto di una sostanza fluidificata (STRAUB).

Infine ho voluto registrare i movimenti dei segmenti di lombrichi considerati come pezzi d'organo isolati. Mi sono servito della camera umida del BOTTAZZI, adoperando come liquido nutritivo Ringer per rana ossigenato. L'esperimento veniva fatto a temperatura ambiente (18°C.20°C.)

Ho prescelto sempre i segmenti mediani dell' animale ; essi appena adattati al nuovo ambiente, danno una serie di oscillazioni più o meno regolari, quasi tutte sulla stessa ascissa. Aggiungendo acido filicico alla diluizione di 1:10.000 si ha subito un abbassamento del tono cui segue un aumento che si accompagna ad un numero maggiore di contrazioni più ampie.

Se adoperiamo la sostanza in concentrazioni maggiori (1:5000) si osserva considerevole ipotonia indi ipertonia con diminuizione di ampiezza delle contrazioni le quali però sono sempre evidenti. Se adoperiamo invece acido filmaronico esso già alla diluizione di 1:12000 determina considerevole ipertonia cui segue vera e propria contrattura che talvolta è definitivamente seguita dalla morte.

Spesso però prima di questa v'è una ripresa dell' attività muscolare di breve durata cui segue la morte, talvolta con diminuizione del tono (fig. 9).

Risulta chiaramente dunque che le due sostanze si comportano sui lombrichi isolati alla stessa guisa che sugli altri muscoli lisci, mostrandosi anche questa volta più attivo l'acido filmaronico.

VI. — Conclusioni.

Dalle ricerche esposte possiamo dedurre che :

1) L'acido filicico e l'acido filmaronico sia sugli animali a sangue freddo che su quelli a sangue caldo determinano un avvelenamento che è rappresentato da fenomeni convulsivi.

L'azione tossica è più spiccata per l'acido filicico che per quello filmaronico, ed è indipendente dalla natura del solvente (olio di ricino, carbonato sodico).

2) Sia l'acido filicico che l'acido filmaronico agiscono sul cuore di rana e di rospo determinando a piccole dosi un aumento dell' ampiezza di contrazione e della fase diastolica. Per dosi maggiori si hanno gravi disturbi del ritmo e dell' ampiezza delle pulsazioni ed infine il cuore si arresta in diastole. L'azione si esplica sui centri inibitori intracardiaci ma, essenzialmente, sulla fibra muscolare del cuore: sia l'acido filicico che filmaronico sono quindi sostanze ad azione cronotropa negativa ed inotropa positiva a piccole e medie dosi ; inotropa negativa a dosi maggiori.

3) Nei mammiferi le sostanze iniettate per vie endovenosa determinano abbassamento della pressione arteriosa, che s'accompagna ad aumento delle pulsazioni. Cessando però l'ipotensione, chè temporanea, si stabilisce, come negli animali a sangue freddo, bradicardia, meno accentuta sugli animali atropinizzati ed a vaghi recisi. L'ipotensione è di origine centrale ed è notevolmente maggiore, alle stessi dosi, per l'acido filicico.

4) Sui muscoli lisci l'acido filicico determina alla diluizione di 1:100.000 abbassamento del tono cui segue, rapidamente, una graduale ipertonia con diminuizione della ampiezza delle contrazioni ed infine contrattura e morte.

Se la concentrazione diminuisce (1:150.000), pur aumentando il tono del preparato, l'ampiezza ed il numero delle contrazioni aumentano anch' esse.

Le stesse modificazioni determina l'acido filmaronico agendo però a diluizioni maggiori (1:160.000) ; esso è dunque, per quanto si riferisce all' azione sui muscoli lisci, più attivo dell' acido filicico; tale azione si esplica sulle fibre muscolari.

5) I lombrichi di terra in soluzione di acido filicico muoiono in circa un' ora ; l'acido filmaronico invece già alla diluizione di gr. 0,01 % in mezz' ora produce gli stessi effetti mostrandosi quindi più attivo.

Sia l'una sostanza che l'altra su segmenti isolati di lombrichi producono le stesse modificazioni che già abbiamo riferite per i preparati di organi a fibre muscolari lisce.

VII. — **Bibliografia.**

1. Malin : *Citato da Guareschi* (Enciclopedia di chimica).
2. Luck : *Chem. pharm. Centralbl.* 2, N. 43 (1851).
3. Gabrowski : *Liebig's Annalen*, CXLIII, ed. 1867, S. 279.
   » *Journal j. prakt. Chemie*, CIII Bd., 1868, S. 224.
4. Daccomo : *Chemie Berl.*, Bd. 1888, S. 2962.
   » *Annali di chimica medica*, 1887, Vol. V.
   » *Annali di chimica e farmacol.*, 1888, p. 285.
5. Bohem : *Arch. f. exp. Phat. u. Pharm.*, XXXVII, p. 35, 1896.
   » *Annalen d. Chimie u. Pharm.*, 318 ; 294 (1901).
6. Rulle : *Tesi di Dorpat* (1867).
7. Carlblom : *Tesi di Dorpat* (1866).
8. Perroncito : *Giornale della R. Accademia di Torina*, Torino, 1885, p. 812.
   » *Atti della R. Acc. dei Lincei*, 1880.
   » *Atti della R. Acc. di agricoltura di Torino*, 1880.
9. Parona : *Citato da Guareschi* (l. c.).
10. Kraft : *Arch. d. Pharmazie*, Sd. 242 (1904).
   » *Schweiz Wochenschr. J. Chem. u. Pharm.*, N. 28 1902.
11. Aubel : *Archivio di farmacol. e teraupetica*, Vol. IV, 1896.
12. Brieger : *Therapie der Gegenwart*, 1905, N. 10.
13. Rodenstein : *Wiener med. Presse*, 1906, N. 8.
14. Cavazzani : *Rivista critica di clinica med.*, 1910, N. 38.
15. Gandini : *Medicina nuova*, 1910, N. 11.
16. Stringari : *L'Italia Sanitaria*, 1910, N. 6.
17. Nagel : *Deutsche Med. Wochenschrift*, 1903, N. 31.
18. Gmeimner : *Deuts. Tierarzt. Wonchenschr.*, anno XV, N. 37-38.
19. Poulson : *Lehrbuck der Pharmacolg. Leitzig*, I, 1909.
20. Paltauf : *Prager med. Wochenschrif*, 1892, N. 5.
21. Hermann : *Citato da Guareschi Enciclopedia di Chimica.*
2. Quirll : *Tesi di Berlino*, 1888.
23. Jaquet : *Therapeut Montsch.*, 1904.
24. Leichtenstern : *Handb. der exp. Ther.*, Vol. IV, p. 618(1896).
25. Drenkhahn : *Citato da Jaquet* (l. c.).
26. Gaglio : *Farmacologia e terapia.*
27. Straub : *M. Heffter-Handbuch exp. Pharmac.*, Bd. II, 1924.
28. Hausmann : *Diss. Leippig*, 1899.
29. Bottazzi : *Memoria della R. Accademia dei Lincei.*
30. Chistoni : *Archivio di fisiologia*, Vol. XV, fasc. V e VI, 1918.

TRAVAIL DE L'INSTITUT DE PHARMACODYNAMIE ET DE THÉRAPIE DE L'UNIVERSITÉ DE GAND.
DIRECTEUR : J.-F. HEYMANS.

ACTION VASCULAIRE ET VASOMOTRICE DE L'ATROPINE

par

P. REGNIERS.

A. — Action vasculaire de l'atropine.

De ses observations sous le microscope, de la membrane interdigitale de la grenouille, PANTELJEFF (1) conclut à l'action vaso-dilatatrice de l'atropine. ALBERTONI (2) distingue une action constrictrice de l'atropine sur les vaisseaux cérébraux et dilatatrice sur les vaisseaux cutanés des mammifères. KOBERT (3) obtient une vasodilatation intense par l'atropine en perfusant le rein et l'intestin du chien et les cornes utérines du lapin ; THOMSON (4) observe la même action sur le rein et la rate des bovidés et sur la grenouille. D'après BEYER (5), au cours de la perfusion chez la tortue, l'atropine commence par ralentir l'écoulement du liquide, ensuite elle l'accélère. HEBDON (6) dans ses expériences sur le cœur isolé et en survie, de chat et de lapin, n'obtient aucune action vasculaire nette avec des doses moyennes d'atropine comme 1:40.000 ; des doses plus fortes causent une dilatation considérable des vaisseaux coronaires et une augmentation d'amplitude et de fréquence des contractions cardiaques. Les expériences de PICK (7) sur la patte du chien montrent que les fortes doses d'atropine provoquent une vasodilatation intense. MEYER (8) et MULLER (9) observent tous deux que les artères suspendues dans une solution de Ringer contenant de l'atropine à une concentration de 1/2.000 perdent peu à peu leur tonus.

UHLMANN (10) perfusant l'oreille de lapin, obtient de la vasoconstriction par les petites doses, de la vasodilatation par de plus fortes doses d'atropine, ce qu'il explique en disant que les faibles doses excitent le sympathique, les doses massives le paralysent. D'après HILDEBRANDT (11) l'atropine ne dilaterait les vaisseaux de la grenouille perfusée que lorsqu'on commence par les tonifier au moyen de l'adrénaline. RICHET (12) perfusant la patte du chien n'observe aucune action vasculaire de l'atropine. FOA (13) au contraire signale de la vasodilatation par injection d'atropine dans l'oreille perfusée du lapin.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Nous nous sommes servi, dans nos expériences de la technique décrite dans un travail antérieur auquel nous renvoyons. (*)

Voici quelques-uns des résultats obtenus dans la perfusion de la tête ou des pattes du lapin et du chien. L'atropine, en solution dans du Ringer, est injectée dans le tube de perfusion. Les variations vasculaires sont enregistrées soit au compte-goutte veineux, soit au manomètre à eau greffé sur le tube de perfusion.

a) *Lapin.*

Lapin 47. Perfusion tête. Pression manomètre à eau. Liquide de perfusion : 100 cm³ sang lapin + 200 cm³ Ringer.

Temps.	Injections.	Cm. manomètre eau avant.	Cm. manomètre eau après.	Variations.
16 h. 32'20"	0,01 mgr. atropine	47	37	—10
47' 3"	0,1 » »	44	11	—33
17 h. 26'32"	0,1 » »	48	tend vers zéro	—48
32'50"	0,1 » »	38	» » »	—38

Lapin 25. Perfusion tête. Enregistrement compte-goutte. Liquide de perfusion : 150 cm³ sang lapin + 150 cm³ Ringer.

Temps.	Injection.	Nombre de gouttes.	Variations %
17 h. 19'	0,1 mgr. atropine	56	
20'		70	
21'		97	+ 73 %
22'		73	

Lapin 66. Perfusion train postérieur. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 75 cm³ sang lapin + 325 cm³ Ringer.

Temps.	Injection.	Cm. manomètre à eau.	Variations.
16 h. 48' 5"		70	
49' 7"	1 mgr. atropine	70	
51'10"		52,8	—17,2
51'45"		54	

(*) P. REGNIERS. Recherches pharmacodynamiques sur les actions vasculaire, vasomotrice et pupillaire du calcium et du potassium. Ces Archives, 1926, XXXI, 303.

L'action de l'atropine sur les vaisseaux perfusés de la tête et des pattes du lapin se caractérise donc par une vasodilatation intense.

b) Chien.

Chien 4. Perfusion pattes. Pression manomètre à eau. Liquide de perfusion : 150 cm³ sang chien + 350 cm³ Ringer.

Temps.	Injections.	Cm. manomètre eau.	Variations.
17 h. 13'21"	0,4 mgr. atropine	72	
14'		64	—8
26'	1 mgr. atropine	90	
27'30"		72	
29'		62	—28

Comme on le voit l'atropine dilate les vaisseaux de la patte du chien.

Signalons encore l'action de l'atropine sur des vaisseaux en vasoconstriction par l'excès de potassium ou la suppression de calcium.

Lapin 49. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide de Perfusion I : 65 cm³ sang + 120 cm³ Ringer. Liquide II : 65 cm³ sang + 120 cm³ Ringer, sans Ca + 20 cm³ sol. citrate de Na à 3,8 %.

Temps.	Liquide de perfusion.	Injection.	Cm. manom. eau.	Variations.
16 h. 30'15"	Liquide I		35	
37'15"	Liquide II		79,6	+44,6
47'12"		0,1 mgr. atropine		
49'31"			70	
50'30"			60	
52'10"			54	
54'52"			50	—42

Lapin 59. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide I : 35 cm^3 sang + 110 cm^3 Ringer. Liquide II : 35 cm^3 sang + 115 Ringer contenant 5 fois la dose normale de KCl.

Temps.	Liquide de perfusion.	Injection.	Cm. manomètre à eau.	Variations.
16 h. 37′	Liquide I		40	
44′	Liquide II		44	
17 h. 4′			72	+32
6′		0,1 mgr. atropine	48	—24

Chat 10. Perfusion train postérieur. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 100 cm^3 sang + 300 cm^3 Ringer.

Temps.	Liquide de perfusion.	Injections.	Cm. manomètre à eau.	Variations.
17 h. 20′10″	Ringer normal	1 cm^3 KCl à 1,15 %	72	
23′20″			110	+38
24′25″		2 mgr. atropine	110	
24′45″			70	—40
25′			78	

Ces expériences montrent que lorsque les vaisseaux du lapin et du chat sont contractés par la suppression du calcium ou l'augmentation du potassium, l'atropine lève ce spasme vasculaire.

Conclusion : L'atropine est un vasodilatateur des vaisseaux de la tête et du train postérieur du lapin et du chien. Elle lève en outre le spasme vasculaire dû à l'excès de potassium ou à la suppression du calcium.

B. — Influence de l'atropine sur l'excitabilité du sympathique cervical.

Ce fut en 1867 que BEZOLD et BLŒBAUM (14) montrèrent que l'atropine paralyse le vague cardiaque de la grenouille et diminue fortement l'excitabilité des cellules cardiaques ; ils remarquèrent en outre que si une injection de 25 à 30 mgr. d'atropine ne suffit pas pour empêcher l'action accélératrice cardiaque consécutive à l'excitation du nerf sympathique, on peut paralyser ce nerf complètement par une injection de

10 centigrammes. BOEHM (15) trouva qu'après atropinisation, le nerf accélérateur du cœur est encore excitable mais moins que chez l'animal normal. MORAT (16) observe que, lorsque l'animal est atropinisé, l'excitation des accélérateurs est sans effet sur la fréquence du cœur. Cependant DIMITRACOFF (17) qui a récemment repris cette étude, n'a jamais pu constater la paralysie des nerfs accélérateurs du cœur par l'atropine ; tout au plus les fortes doses d'atropine peuvent-elles augmenter un peu le temps nécessaire à la réaction. D'après LANGLEY et ANDERSON (18) l'excitation électrique des nerfs lombaires provoque de la vasoconstriction dans l'utérus et le vagin de la lapine : l'injection de doses d'atropine allant jusqu'à 50 mgr. est sans effet sur l'excitabilité de ces nerfs. PIOTROWSKY (19) étudie l'action de l'atropine sur l'excitabilité électrique de plusieurs nerfs, entre autres du sympathique cervical, il arrive à la conclusion que même des doses de 60 mgr. d'atropine sont sans action sur les fibres vasoconstrictrices du sympathique cervical. La conclusion est identique en ce qui concerne les nerfs vasomoteurs des poumons, de la verge, de la langue et de la patte de chien. Ces résultats concordent d'ailleurs avec ceux de la plupart des auteurs tels SCHÄFER et MOORE (20) pour les vaisseaux de la rate, OSTROUMOFF (21) et LANGLEY et ANDERSON (18) pour les vaisseaux de la verge, et BUNCH (22) pour les vaisseaux de l'intestin ; CARLSON (23) trouve que les fibres vasoconstrictrices sympathiques des glandes salivaires sont moins sensibles à l'atropine que les fibres vasodilatatrices. PICK (7) par contre admet que les fortes doses d'atropine, soit 60 à 100 mgr., paralysent les terminaisons nerveuses vasoconstrictrices du sciatique du chien. HILDEBRANDT (11) étudiant les variations d'excitabilité des fibres sympathiques vasoconstrictrices de la grenouille perfusée par la méthode de Läwen-Trendelenburg, constate qu'après perfusion avec du Ringer contenant de l'atropine ces fibres sont devenues inexcitables. Les résultats expérimentaux sont donc loin d'être concordants. C'est ce qui nous incita à réprendre l'étude de l'excitabilité du sympathique cervical après atropine.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Lapin 47. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 100 cm³ sang lapin + 200 cm³ Ringer.

Temps.	Injections.	Excitations du sympathique. Intensité.	Durée.	Cm. man. à eau avant.	après.	Variations
16 h. 25'27"		Chariot 26	5"	47	54.4	+7.4
32'24"	0,01 mgr. atropine.					
34'21"		» 26	5"	44	48	+4
44'45"		» 26	5"	46	50	+4
47' 3"	0,1 mgr. »					
57'25"		» 26	10"	48	50	+2
17 h. 8'34"		» 26	10"	48,4	56,5	+8,1

Cette expérience, semblable à plusieurs autres, montre que l'injection d'atropine diminue le pouvoir vasoconstricteur de l'excitation du sympathique cervical. La parésie de ce nerf est d'autant plus accentuée que la dose injectée a été plus considérable ; elle se maintient plusieurs minutes pour disparaître lorsqu'on perfuse suffisamment long-

temps avec du Ringer normal. Cet effet parésiant de l'atropine est-il dû à son action sur les terminaisons nerveuses sympathiques ou bien à son action sur la fibre musculaire lisse ? Les expériences suivantes contribueront à élucider cette question.

C. — Influence de l'atropine sur l'action vasculaire de l'adrénaline.

En 1908, MEYER (8) entreprend l'étude des rapports qui existent entre l'action de l'atropine et celle de l'adrénaline sur les vaisseaux sanguins et se sert dans ce but de la méthode des artères isolées de bœuf : il trouve que l'atropine à fortes doses diminue nettement ou empêche l'action vasoconstrictrice de l'adrénaline, sans qu'il s'agisse là d'une paralysie musculaire puisque l'excitabilité électrique est restée inchangée. Plus tard SICCARDI et LOREDAN (24), PROCHNOW (25) arrivent au même résultat : l'atropine inhibe l'action de l'adrénaline sur les vaisseaux isolés de mammifères. HILDEBRANDT (11) étudie ces deux substances sur la grenouille perfusée selon la méthode de Läwen-Trendelenburg : l'atropine y lève le spasme causé par l'adrénaline mais reste sans effet sur le spasme vasculaire dû au $BaCl_2$. Telle est encore la conclusion de BACKMANN et LUNDBERG (26) qui emploient la méthode des artères isolées. De plus d'après ces auteurs, l'atropine agit encore en antagoniste de l'adrénaline sur le cœur isolé des mammifères et sur la pression de l'animal *in vivo* ; et elle invertit l'action de l'adrénaline sur le rein. WEHLAND (27) observe la même inversion sur la grenouille perfusée, alors que le $BaCl_2$ garde tout son pouvoir vasoconstricteur. RICHET (12) signale également que l'atropine inhibe l'action vasoconstrictrice de l'adrénaline sur la patte perfusée du chien. Quant à l'antagonisme entre atropine et adrénaline sur la pression sanguine *in vivo*, chez l'homme, SCHIFF et BALINT (28) ont signalé qu'après injection de 15 gouttes d'une solution à 0,5 ‰ d'atropine pendant 2 à 4 jours, l'effet hypertenseur de l'adrénaline est beaucoup moins marqué.

Voici nos expériences sur le lapin.

PARTIE EXPÉRIMENTALE.

Lapin 48. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 100 cm³ sang lapin + 200 cm³ Ringer.

Temps.	Injections.	Cm. manom. à eau avant.	après.	Variations.
16 h. 55′35″	0,01 mgr. adrénaline	39	59,6	+20,6
17 h. 5′ 1″	0,1 » atropine	40	4	—36
9′11″	0,01 » adrénaline	4	9,8	+ 5,8
28′15″	0,01 » »	43,8	60,8	+17
32′16″	0,1 » atropine	48	12	—36
38′21″	0,01 » adrénaline	41,5	59,8	+18,3
39′57″	0,1 » atropine	59,8	40 et maintenu	
41′50″	0,01 » adrénaline	40	51,2	+11,2

Si on compare les chiffres obtenus par injection d'adrénaline avant et après l'injection d'atropine, on remarque que l'effet vasoconstricteur de l'adrénaline est diminué par l'atropine. L'action parésiante de l'atropine se maintient pendant quelques minutes, après quoi l'adrénaline redevient normalement active.

Lorsque l'injection d'adrénaline est faite immédiatement après l'injection d'atropine, toute action vasoconstrictrice adrénalinique est même supprimée. Mais l'atropine invertit-elle l'action de l'adrénaline ?

Lapin 28. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 100 cm³ sang + 200 cm³ Ringer.

Temps.	Injections.	Cm. manom. à eau avant	après	Variations.
17 h. 29'45"	0,01 mgr. atropine	94	88,8	—5,2
31'	1:2.000 mgr. adrénaline	88,8	87,8	—1

Lapin 47. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 100 cm³ sang + 200 cm³ Ringer.

Temps.	Injections.	Cm. manom. à eau avant.	après.	Variations
16 h. 47'3"	0,1 mgr. atropine	44	11	—33
55'3"	1:2.000 mgr. adrénaline	11	7	— 4

Lapin 49. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 65 cm³ sang + 120 cm³ Ringer.

Temps.	Injections.	Cm. manom. à eau avant	après.	Variations.
16 h. 47'13"	0,1 mgr. atropine	92	50	—42
55'17"	1:2.000 mgr. adrénaline	50	46	—.4

Ces expériences lapins 28, 47 et 49 montrent que l'atropine peut invertir l'action de petites doses d'adrénaline.

En résumé : L'atropine diminue ou supprime le pouvoir vasoconstricteur de l'adrénaline ; parfois elle invertit légèrement l'action de celle-ci.

—

On admet généralement que la pituitrine agit sur la fibre musculaire lisse des vaisseaux qu'elle contracte. L'atropine supprime-t-elle l'action vasculaire de la pituitrine?

Lapin 50. Perfusion tête. Pression au manomètre à eau. Liquide de perfusion : 50 cm^3 sang + 150 cm^3 Ringer.

Temps.	Injections.	Cm. manom. à eau avant	après.	Variations.
17 h. 58'40"	0,1 mgr. atropine	42	28	—14
18 h. 0'28"	0,1 cm^3 pituitrine P. D.	28	49,6	+21,6

Cette expérience et d'autres semblables démontrent que l'atropine n'empêche point l'action vasoconstrictrice de la pituitrine. L'atropine ne semble point porter son action sur la fibre musculaire, son action paralysante se localiserait donc au niveau du point d'action vasculaire de l'adrénaline.

Tous ces faits concordent pour faire admettre que l'atropine à doses suffisantes, paralyse les terminaisons vasomotrices sympathiques. L'atropine ainsi que Pick et d'autres auteurs l'ont déjà signalé pour le cœur, serait donc bien amphotrope avec action vagolytique prédominante.

CONCLUSIONS.

1. — L'atropine est un vasodilatateur des vaisseaux de la tête et du train postérieur du lapin et de la patte du chien.

2. — L'atropine lève le spasme vasculaire dû à un excès de potassium ou à la suppression du calcium.

3. — L'atropine peut provoquer chez le lapin une parésie des terminaisons nerveuses vasoconstrictrices du nerf sympathique cervical.

4. — L'atropine, à doses suffisantes, diminue ou supprime le pouvoir vasoconstricteur de l'adrénaline ; elle peut invertir légèrement l'action de celle-ci.

5. — L'atropine ne supprime pas l'action vasoconstrictrice de la pituitrine. Son action paralysante vasculaire ne semble donc point se porter sur la fibre musculaire mais plutôt au niveau du point d'action vasculaire de l'adrénaline.

6. — L'atropine est un alcaloïde amphotrope avec action vagolytique prédominante.

BIBLIOGRAPHIE.

1. PANTELJEFF : *Med. Centralblatt.* 1880. XXIX. 529.
2. ALBERTONI : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1882, XV, 270.
3. KOBERT : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.*, 1886, XXII, 77.
4. THOMSON : *Inaugur. Dissert. Dorpat.* 1886.
5. BEYER : *Americ. Journ. Med. Sc.* 1885, XC, 60.
6. HEBDOM : *Skandin. Arch. f. Physiol.* 1898, VIII, 147.
7. PICK : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1899, XXXXII, 399.
8. MEYER : *Ztschft. f. Biologie.* 1906, XXXXVIII, 352.
9. MÜLLER : *Arch. f. Anat. u. Physiol.* 1906, Suppl. II, 411.
10. UHLMANN : *Arch. de la Soc. Helvét. Sc. Natur.* 1920, 236.
11. HILDEBRANDT : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1920, LXXXVI, 225.
12. RICHET : *Journ. Physiol. et Path. génér.* 1924, XXII, 303.
13. FOA : *Arch. di Scienz Biolog.* 1921, II, 1.
14. BEZOLD et BLOEBAUM : *Unters. aus Phys. Labor. Wurzburg.* 1867, I, 1.
15. BOEHM : *Arch. f. Exp. Path. u. Pharmak.* 1875, IV, 255.
16. MORAT : *C. R. Soc. Biol.* 1883, XXXV, 518.
17. DIMITRACOFF : *Arch. Intern. Pharmac. et Thérap.* 1925, XXX, 311.
18. LANGLEY et ANDERSON : *Journ. Physiol.* 1895, XIX, 85.
19. PIOTROWSKY : *Pflügers Arch.* 1893, LV, 240.
20. SCHÄFER et MOORE : *Journ. of Physiol.* 1896, XX, 1.
21. OSTROUMOFF : *Pflügers Arch.* 1876, XII, 219.
22. BUNCH : *Journ. of Physiol.* 1899, XXIV, 42.
23. CARLSON : *Americ. Journ. of Physiol.* 1907, XIX, 409.
24. SICCARDI et LOREDAN : *Ztschft. f. Allg. Physiol.* 1913, XV, 84.
25. PROCHNOW : *Arch. Intern. Pharmac. et Thérap.* 1911, XXI,287.
26. BACKMANN et LUNDBERG : *Upsala Läkareför. förhand.* 1924, XXX, 1.
27. WEHLAND : *Skand. Arch. f. Physiol.* 1924, XLV, 211.
28. SCHIFF et BALINT : *Jahrbuch f. Kinderheilb.* 1921, LXXXXIV, 1.

INSTITUT D'HYGIÈNE, DE BIOLOGIE ET DE CHIMIE DE L'ARMÉE BELGE,
BRUXELLES.

L'ACTION RÉDUCTRICE DES MICROBES ET DES ORGANES SUR LA DÉCOMPOSITION DU CACODYLATE DE SOUDE

PAR

le Dr. J. WAGEMANS & P. MEURICE.

La décomposition de certains produits arsenicaux, sous l'influence de quelques moisissures est un fait connu depuis longtemps et étudié par de nombreux auteurs tant chez nous qu'à l'étranger.

Un procédé de culture de certains aspergillus sur ces produits a même été préconisé comme méthode toxicologique. Le lecteur que la question intéresse trouvera un intéressant exposé de toute cette question dans une belle monographie publiée en 1904 par le Prof. SCHOOFS, professeur d'hygiène à l'Université de Liége, qui a lui même élucidé de nombreux problèmes rattachés à cette question.

M. SCHOOFS cite entre autres expériences celles ayant trait à l'étude de la décomposition éventuelle des produits arsenicaux par voie microbienne.

A l'encontre de ce qui se passe auprès des moisissures, les microbes ne semblent pas être à même de décomposer ces produits. Le composé le plus fréquemment utilisé pour ces recherches est l'anhydride arsenieux ($As_2 O_3$). Par une généralisation erronée, tous ces auteurs se sont trouvés d'accord pour admettre que l'action bactérienne sur les sels arsenicaux est nulle. Cependant, nous tenons à exposer dans cette étude que cette décomposition se produit lorsqu'on cultive certains microbes dans une solution de cacodylates. Nous n'avons trouvé dans la littérature aucune recherche bactériologique sur ce produit qui a peut-être échappé à l'attention de ces auteurs.

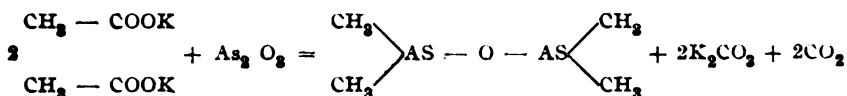
C'est fortuitement que nous avons remarqué la décomposition de ce produit en incorporant le contenu d'une ampoule de cacodylate de strychnine à un tube de gélose liquéfiée à 55°.

Après refroidissement, celle-ci est ensemencée avec un colibacille et après 24 heures de culture à 37° une odeur caractéristique d'ail rem-

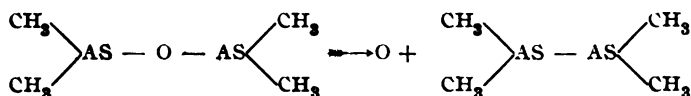
plit toute l'étuve. C'est à la suite de cette observation, de pur hasard, que nous avons institué les recherches spéciales développées ci-après.

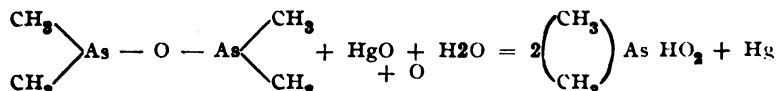
Mais avant d'aborder celles-ci il est nécessaire de rappeler en quelques mots la préparation du cacodylate de soude (1), certains corps organiques formés durant les diverses phases de cette fabrication devant être pris en considération dans cette étude.

Dans une première phase, on chauffe sur bain de sable un mélange d'anhydride arsénieux et d'acétate de potassium. Il se produit de l'oxyde de cacodyle.

$$2\begin{matrix} CH_3 - COOK \\ CH_3 - COOK \end{matrix} + As_2O_3 = \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>AS - O - AS<\!\!\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} + 2K_2CO_3 + 2CO_2$$

L'oxyde de cacodyle est vénéneux et dégage une odeur d'ail (odeur de cacodyle).

Pour mémoire, nous dirons que la réduction de l'oxyde de cacodyle produit le cacodyle proprement dit, d'odeur très repoussante également.

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>AS - O - AS<\!\!\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} \longrightarrow O + \begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>AS - AS<\!\!\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}$$

Dans une 2e phase l'oxyde de cacodyle est mis en présence d'oxyde rouge de mercure et se transforme en acide cacodylique, par oxydation.

$$\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\!\!>As - O - As<\!\!\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix} + \begin{matrix} HgO \\ + O \end{matrix} + H2O = 2\left(\begin{matrix} CH_3 \\ CH_3 \end{matrix}\right) As\, HO_2 + Hg$$

Le cacodylate de soude est le sel sodique de l'acide cacodylique.

L'acide cacodylique inodore ne se décompose qu'à plus de 200°. Les réducteurs faibles (H_2SO_3, acide oxalique) sont sans action sur lui. Au contraire l'acide phosphoreux le réduit en le ramenant à l'état d'oxyde de cacodyle.

TECHNIQUE.

Des tubes de bouillon stérile (pH. 7,5) contenant 5 cm^3 de bouillon sont ensemencés d'une goutte d'une culture microbienne de 24 heures et simultanément on y incorpore le contenu d'une ampoule de 1 cm^3 de cacodylate de soude à 3 % dans l'eau distillée (ampoule de cacodylate de soude ordinaire de pharmacie).

Les cultures microbiennes choisies sont : le b. typhique, le colibacille, le b. pyocyanique, le b. subtilis, le b. shiga, le staphylocoque

(1) Toutes nos expériences sont faites à l'aide de cacodylate de soude, mais les autres sels de l'acide cacodylique (cacodylate de Fe, Mn, de strychnine, etc) donnent les mêmes résultats.

blanc et l'entérocoque. Nous plaçons nos tubes à l'étuve pendant 24 heures et nous notons le développement de la culture et l'intensité de l'odeur de cacodyle dégagée.

2 tubes de bouillon de 5 cm³ ayant reçu uniquement le contenu d'une ampoule de cacodylate de soude, *sans microbes*, servent de témoin. Il est évident que si après un passage de 24 heures à l'étuve, ces derniers tubes sentaient le cacodyle, il faudrait en conclure, soit que l'ampoule s'est infectée et que le microbe infectant attaque le produit, soit que le cacodylate de soude s'est déjà décomposé à l'intérieur de l'ampoule. Dans ces deux cas l'expérience est nulle et sans valeur.

Voici consigné dans le tableau le résultat que nous avons obtenu.

TABLEAU I.

B. Typhique	Coli.	B. Pyo.	B.Subtilis.	B.Shiga	Staph. bl.	Enter.
+	+	+ +	+	+	—	⊥
					témoin.	
					—	

Explication des signes.
— pas d'odeur.
⊥ légère odeur.
+ forte odeur.
+ + odeur très intense.

Ces essais répétés nous ont toujours sensiblement donné le même résultat.

Nous avons examiné ensuite si diverses souches d'un même microbe se comportaient toutes de façon identique.

C'est ainsi par exemple que 10 souches de B. Typhique reçoivent une ampoule de cacodylate de soude. Parmi celles-ci 8 donnent une forte odeur de cacodyle, 1 souche ne donne qu'une légère odeur et la 10ᵉ n'en donne pas du tout.

6 souches de paratyphique B. donnent toutes une forte odeur d'ail. Il en est de même de 2 souches de faecalis alcaligènes et de 3 souches de pyocyanique.

Quant aux staphylocoques, nous avons fait la curieuse constatation que dans la généralité des cas, les staphylocoques dorés décomposent nettement le cacodylate tandis que les staphylocoques blancs n'y touchent pas. *Le cacodylate de soude en ampoules de pharmacie, ordinaires, peut donc se décomposer sous l'action de certains microbes.*

Nous nous sommes demandé alors si cette odeur de cacodyle était due à la décomposition du cacodylate de soude proprement dit, ou s'il fallait incriminer la série de manipulations qui rendent ce médicament injectable (tyndallisation, mise en ampoules, etc.).

Il fallait donc faire une expérience semblable à celle développée ci-dessus, mais en se servant de cacodylate de soude en solution stérile, et non chauffé. A cet effet nous dissolvons 3 décigrammes de cacodylate de soude en poudre, dans 10 cm³ d'eau distillée et nous filtrons cette solution à travers une bougie Chamberland. Cette

solution stérile et filtrée est ensuite répartie à raison de 1 cm³ (à 3 %) dans 7 tubes de bouillon de 5 cm³ ensemencés avec les cultures microbiennes précitées.

Un 8ᵉ tube reçoit 1 cm³ de solution dans du bouillon non ensemencé et sert de témoin.

Voici les résultats après 24 heures d'étuve.

TABLEAU II.

	B. Typh.	Coli.	Pyo.	Subtilis	B. Shiga	Staph. bl.	Entér.	Témoin
odeur d'ail.	—	—	+	—	—	—	—	—

Par conséquent contrairement aux essais faits à l'aide d'ampoules de pharmacie, ces microbes, à l'exception toutefois du B. Pyo, ne donnent pas d'odeur d'ail.

Nous avons plusieurs fois refait ces essais avec résultat identique. Il y a donc lieu d'admettre que *la série de manipulations qu'on fait subir à ce produit* pour en faire un produit pharmaceutique injectable, l'*altèrent de telle sorte qu'elle rendent possible son attaque par certaines souches microbiennes.*

Il reste donc à déterminer, dans quelles conditions de température, cette altération se produit. Il est possible que la température de tyndallisation de ces ampoules est variable ; aussi préparons-nous une solution stérile à froid de cacodylate de soude filtrée sur bougie Chamberland et nous la répartissons en tubes à essai stériles, bouchés simplement à l'ouate.

L'un de ces tubes est chauffé à 60° pendant une heure.

Le 2ᵉ de ces tubes est chauffé à 80° pendant une heure.

Le 3ᵉ de ces tubes est chauffé à 100° pendant une heure.

Le 4ᵉ de ces tubes est chauffé à 120° (1 athm.) une heure.

En voici le résultat.

TABLEAU III.

	B. Typh.	Coli.	Pyo.	Subtilis	B. Shiga	Staph. bl.	Entér.	Témoin
60°	—	—	+	—	—	—	—	—
80°	—	—	+	—	—	—	—	—
100°	—	—	+ +	—	—	—	—	—
120°	+	—	+	+	—	—	—	—

Le cacodylate chauffé à 60°, 80° ou 100° n'est donc pas attaqué sauf par le Pyo.

Toutefois à 120° le B. Typhique et le subtilis l'attaquent également.

Comparativement au résultat du tableau 1 l'altération du produit chauffé à 120° n'est pas aussi prononcée que celle des ampoules tyndallisées, de pharmacie.

Il fallait donc examiner : 1° Si le chauffage *répété*, même à température relativement basse (65°) était responsable des altérations constatées dans les ampoules tyndallisées.

2° Si le fait de chauffer des produits en *ampoules scellées*, plutôt qu'en tube ouvert était responsable de cette altération. Nous instituons donc une double série d'essais :

a) Dans une 1re série nous utilisons une solution de cacodylate de soude à 3 % filtrée sur bougie en tube à essai bouché à l'ouate, et chauffée à 65° pendant 20 minutes, à 3 reprises et à raison d'un chauffage par jour.

b) Dans une 2e série, la solution stérile de cacodylate de soude est chauffée soit à 65°, soit à 100° en ampoules brunes de verre neutre de 1cc. en solution à 3 % pendant 20 minutes à 3 reprises et à raison d'un chauffage par jour.

Comme le montre le tableau suivant, la 1re série, tyndallisée 3 fois à 65° en tube ouvert, ne signale pas d'altération du produit à l'exception de celle produite par le B. Pyo.

Au contraire le chauffage à 65° ou à 100° en ampoules scellées produit une altération caractéristique et parfaitement comparable à celle du tableau 1.

TABLEAU IV.

	B. Typh.	Coli.	Pyo	Subtilis.	B.Shiga	Staph. bl.	Entér.	Tém.
1re série (tube ouvert)	—	—	+	—	—	—	—	—
2e série (amp. scellées)								
65°	+	+	+	+	—	—	—	—
100°	+	+	+	+	—	—	—	—

Nous en concluons donc que *le chauffage répété, en ampoules scellées, d'une solution de cacodylate de soude, à pour effet de produire une altération ou une modification telles qu'il rend ce produit attaquable par de nombreuses souches microbiennes.* De plus la cacodylate de soude tel quel, et non chauffé est attaqué par le Pyocyanique.

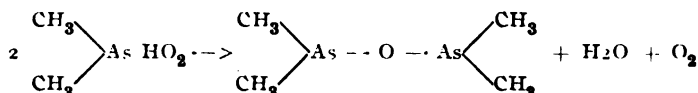
Pousuivant notre étude sur les modifications dues au chauffage, nous avons cru utile de rechercher quelle pouvait être l'action du chauffage *modéré et prolongé*, ainsi que celle des rayons ultra violets sur ce produit. Le tableau détaillé ci-après montre : 1° que le chauffage en tube ouvert d'une solution à 3 % de cacodylate de soude, placée à l'étuve à 37° pendant 8 jours et à l'obscurité, ne modifie pas ce produit (exception faire pour l'action du pyocyanique). D'autre part le cacodylate de soude exposé en poudre, dans un verre de montre aux rayons ultraviolets, à une distance de 25 cm. et sous une température (développée par la lampe de quartz) de 35° pendant 12 heures, modifie profondément le produit qui est devenu déliquescent.

TABLEAU V.

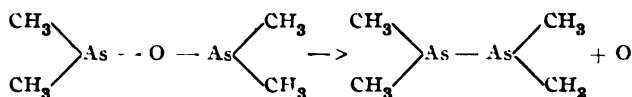
	B. Typh.	Coli.	Pyo.	Subtilis	B.Shiga	Staph. Bl.	Entér.	Tém.
Chauffé à 37°	—	—	+	—	—	—	—	—
Rayons ultra violets.	+	—	+	+	+	+	+	—

Essai d'interprétation de ce phénomène.

Il y a lieu tout d'abord de définir quelle est exactement la modification chimique qui s'opère dans le cacodylate de soude. L'odeur repoussante qui se dégage de ces cultures est manifestement l'odeur de cacodyle et non pas l'odeur vraie d'ail que l'on sent lors du dégagement d'AsH_3. Nous avons toutefois tenu à le rechercher, mais les réactions chimiques habituelles permettant de le déceler sont restées négatives. Nous pensons plutôt qu'il s'agit d'une formation d'oxyde de cacodyle ou même de cacodyle proprement dit ; et pour que cette formation soit possible il faut que le microbe réduise l'acide cacodylique en oxyde de cacodyle.

$$2\ (CH_3)_2 As\, HO_2 \longrightarrow (CH_3)_2 As - O - As (CH_3)_2 + H_2O + O_2$$

Réduction que les réducteurs faibles (ac. oxalique, $H_2\ SO_3$) ne produisent pas mais que l'acide phosphoreux peut produire. Ainsi que nous l'avons développée plus haut, (page 2), la prépartion du cacodylate passe par un stade d'oxydation ; l'oxyde de cacodyle se transforme dans ce cas en acide cacodylique. Si donc nous retrouvons l'odeur de cacodyle au sein de notre bouillon de culture au cacodylate, une opération inverse de réduction a nécessairement lieu.

Même, si cette réduction bactérienne est énergique l'oxyde de cacodyle est réduit à son tour, à l'état de cacodyle.

$$(CH_3)_2 As - O - As (CH_3)_2 \longrightarrow (CH_3)_2 As - As (CH_3)_2 + O$$

Tous les microbes examinés possèdent des propriétés réductrices parfois très énergiques. Mais un réducteur des plus sensibles parmi les microbes que nous connaissons est certainement le b. Pyocyanique. L'on connait son emploi simultané dans la culture des anaérobies, où il sert à absorber les dernières traces d'oxygène, nuisible à leur développement. Il réduit les nitrates en nitrites, puis en azote. Son pigment bleu la pyocyanine est très avide d'oxygène, et l'agitation du bouillon de culture du B. Pyocyanique fait d'ordinaire foncer la teinte par absorption d'oxygène par la pyocyanine. A l'encontre du B. Subtilis, lui aussi très réducteur, le B. Pyocyanique consomme principalement l'oxygène en combinaison inorganique ou organique, tandis que le B. Subtilis absorbe de préférence l'oxygène athmosphérique. On comprend dès lors pourquoi le B. Pyo. parvient à attaquer et à réduire le cacodylate de soude tel quel et non modifié par la chaleur, dans le sens d'une formation d'oxyde de cacodyle et peut-être même de cacodyle.Et il est parfaitement possible que cette hypothèse permet d'expliquer le dégagement de cacodyle par les autres cultures microbiennes cultivées sur du cacodylate de soude tyndallisé.

L'on se rappelle que nous avons observé que les staphylocoques blancs, peu virulents, ne décomposent pas le cacodylatuent.soude alors que les staphylocoques dorés, plus virulents, l'attaqe de Cette constatation est en faveur d'une action réductrice, car LESBRE et JAUSION viennent de montrer (1) par des essais de réduction du bleu de méthylène qu'il y a parallélisme entre la virulence et l'action réductrice et que les staph. dorés sont de loin plus réducteurs que les staphyl. blancs.

Nous ne sommes pas parvenus à décomposer suffisamment de cacodylate de soude pour caractériser chimiquement l'oxyde de cacodyle formé. Mais nous avons tout lieu de croire que tel est le corps produit. Quant aux modifications opérées par le chauffage répété en ampoules fermées et qui rendent le produit plus apte à l'attaque microbienne, elles nous échappent encore pour le moment.

Il en est de même du mécanisme mis en œuvre par le microbe lui-même pour la production de l'odeur de cacodyle. Sans citer le détail de nos expériences, nous avons constaté :

1° Que les cultures microbiennes, tuées par chauffage à 60° et dont les exoenzymes resteraient vivantes, ne décomposent pas le cacodylate en ampoules.

2° Les filtrats microbiens de ces cultures sont sans action sur ce produit.

3° Les sérums antimicrobiens obtenus par l'injection de ces souches au lapin, et mis en présence de leurs cultures respectives et de cacodylate de soude n'ont pas empêché la production de cacodyle.

ESSAI D'INTERPRÉTATION DE L'ORIGINE DE L'ODEUR D'AIL (CACODYLE) EXHALÉE PAR LES MALDES TRAITÉS PAR LE CACODYLATE DE SOUDE.

L'on sait qu'après une injection de cacodylate de soude l'air expiré est imprégné d'odeur d'ail chez la moitié au moins des personnes traitées.

Au cours de ces expériences, nous avions émis, très prudemment, l'idée d'une infection microbienne sanguine chez ces personnes soit qu'il s'agisse de toxémie vraie, par affection bronchique intestinale ou autre, soit qu'il s'agisse tout simplement d'une décomposition par les microbes de la flore microbienne, accidentelle et passagère et drainée par ce sang aux heures suivant la digestion alimentaire.

Nous avons même institué des expériences dans ce sens, en injectant du cacodylate de soude à des lapins rendus colibacillémiques, chroniques, et effectivement l'odeur d'ail se dégageait 24 heures après. Mais ces expériences ne nous permettent pas de tirer la conclusion

(1) LESBRE ET JAUSION. Pouvoir réducteur des staphylocoques vis à vis du bleu de méthylène : ses rapports avec la virulence C. R. *Soc. Biol.* t. XCIV n° 9 p. 586; 1926.

voulue, certains animaux témoins, non inoculés, donnant aussi la réaction, alors qu'ils avaient simplement reçu du cacodylate de soude.

L'explication de ce phénomène de réduction n'est donc vraisemblablement pas à rechercher dans une action microbienne. A notre avis il y a lieu d'incriminer dans la majorité des cas, l'*action réductrice des tissus,* qui à l'instar des microbes, peuvent produire des réductions chimiques très notables. C'est pour ce motif d'ailleurs qu'on incorpore dans les milieux de culture des germes anaérobies, un morceau d'organe.

Lorsqu'on dépose *aseptiquement* des parties d'organes tels que le rein, le poumon, la rate, le foie, etc. dans des tubes de bouillon et qu'on les laisse en contact avec du cacodylate de soude, soit en ampoules, soit frais, on constate le lendemain une odeur appréciable de cacodyle.

Le sang ne semble jouir que d'un pouvoir réducteur particulièrement minime ; au contraire, la peau est très réductrice. Ainsi par exemple une ampoule de cacodylate est ouverte et son contenu versé dans la paume de la main est réparti sur cette surface ; au moment de l'opération aucune odeur de cacodyle n'est décelable, mais quelques minutes après, elle est très intense.

CONCLUSIONS.

De l'ensemble de ces recherches nous pouvons conclure :

1° Que le B. Pyocyanique attaque le cacodylate de soude non chauffé en produisant une odeur de cacodyle intense.

2° La plupart des autres microbes produit cette même modification mais uniquement après des chauffages répétés de ce produit à 65 ou 100° en ampoules fermées.

3° Cette modification consiste vraisemblablement en une réduction du produit en oxyde de cacodyle et peut-être même de cacodyle ; cette réduction est produite par le B. Pyo, agissant sur le produit frais et par la généralité des autres microbes, à la suite d'une tyndallisation de ce produit.

4° Nos essais institués pour mettre en évidence une enzyme éventuelle productrice de ce phénomène sont restés négatifs.

5° L'odeur d'ail exhalée par la plupart des patients traités par les injections de cacodylate de soude en ampoules, peut être d'origine microbienne (infection sanguine passagère ou toxémie), mais l'action réductrice des tissus doit dans la majorité des cas être incriminée.

FROM THE DEPARTMENT OF PHARMACOLOGY, STANFORD UNIVERSITY,
SCHOOL OF MEDICINE, SAN FRANCISCO.

ALTERED RESPONSES OF SMOOTH MUSCLE TO AUTONOMIC DRUGS PRODUCED BY PHYSICAL AND CHEMICAL CHANGES*

by

C. H. THIENES **

Introduction.

The anaphylactoid phenomena resulting from a variety of agents, physically and chemically unrelated, and in systemic reactions, which may be severe and even fatal, indicate serious disturbances in cellular functions whose fundamental cause may be of general biological importance and is of special importance to the entire group of allergic phenomena. It has been shown by HANZLIK and KARSNER (1) and by HANZLIK, DE EDS and TAINTER (2) that the intravenous injection of these agents into guinea pigs and dogs results not only in marked symptoms, but also in definite physical and chemical changes in the blood and histological changes in certain tissues, especially the lungs. Several investigators (3) have reported changes in surface tension, colloid dispersion, hydrogen ion concentration, and balance of calcium and other ions, in lipoids, etc., in blood of animals in anaphylactic shock. The changes in protein anaphylaxis are not altogether humoral. There are undoubtedly changes in cells of other tissues, notably in the endothelium of blood vessels, whose permeability is increased as indicated by perivascular and other edemas, and in smooth muscles

(*) The data are taken from a thesis submitted in partial fulfiment of the requirements for the degree of Doctor of Philosophy. Supported in part by a grant to Dr. HANZLIK from the *Therapeutic Research Committee of the Council on Pharmacy and Chemistry of the American Medical Association.*

(**) *Fellow in Medicine of the National Research Council.*

generally. For instance, SCHULTZ (4), demonstrated that isolated intestine, and DALE (5) that isolated, blood-free uterine muscle of sensitized guinea pigs is hypersensitive, responding to the antigen with increased tonus and peristalsis. In other words, the muscle of the sensitized organism has been altered functionally. A causal relation between the blood and tissue changes that have been reported and the associated vascular, muscular and other phenomena has not been demonstrated, but it is conceivable at least that the physical and chemical changes in the environment are the basis of the functional changes in cells, including muscle, and especially when these arise from the physically and chemically different and otherwise inert agents causing the anaphylactoid reactions.

This conception is not new. Modern views of the physiology of skeletal and cardiac muscles recognize the importance of physical and chemical factors, including even changes resulting from nerve stimulation and depression. For instance, HOWELL (6), has associated the liberation of increassed potassium with vagal slowing of the heart. The more recent work of LOEWI (7) and of HAMBURGER (8) on humoral transmission suggests the liberation of chemical products or production of physical changes or both in the circulatory medium resulting from nerve stimulation. The perfusates from such hearts produce effects in untreated hearts according to the nerve stimulated in the perfused organ. The idea has been extended to pharmacology especially by BURRIDGE (9) who has studied the altered responses of cardiac muscle to certain drugs and ascribed these to physical and chemical changes. In fact, systematic studies of this nature have been made almost entirely on the excised frog ventricle or perfused heart. Studies of the smooth muscle are limited and scattered and frequently dear with only a single factor. The altered responses of intestinal muscle to certain drugs have been described to some extent by van Leeuwen and his pupils. Studies of the altered responses of uterine, bronchial and vascular muscle are pratically nonexistant. Yet it is the alteration in the functions of smooth muscle in general that is of special interest in anaphylaxis, in anaphylactoid reactions, in clinical allergies such as asthma, hay fever, urticarias, angioneurotic edema, idiosyncrasies toward drugs, etc. Studies of smooth muscles in the intact organism under these conditions are fraught with great difficulties. Even under the more restricted and controlled conditions of excised organs there are considerable difficulties. However, if the responses of smooth muscles to definite stimuli are not alterable by definite changes in the environment under restricted and controlled conditions, the demonstration of such changes in the intact organism with its numerous variables is less likely to succeed and such environmental changes would tend to lose importance and significance. It would seem more logical, therefore, to test the influence of environmental (physical and chemical) changes on smooth muscle response in excised organs.

Accordingly, experiments were planned to study the effects of changes in environment on the response of smooth muscles of the intestine and uterus to autonomic drugs used as reagents, or chemical stimuli, to elicit their response. The environmental changes that were

induced simulated, whenever possible, those already demonstrated in blood during anaphylactic and anaphylactoid reactions. This method of approach permits the observation of the effect of simple factors upon a relatively simple model. Owing to the fact that the medium (Tyrode solution) surrounding the tissue was different from blood and that an isolated strip of tissue cannot be expected to behave exactly like the intact organ from which it is obtained, the results of the experiments cannot be transferred directly to be intact organism under experimental or clinical conditions, or used to explain sudden death from the intravenous injection of some drug. Nevertheless, since striking alterations and sensitizations have been demonstrated from certain changes in the environment of the isolated smooth muscle in this study, it is at least suggestive that similar factors may be fundamentally responsible for, or concerned with, the entire group of allergic phenomena. However, the results are submitted principally as evidence of altered responses of living cells (intestinal and uterine muscles exhibiting segmental movements) to definite chemical stimuli in virtue of certain physical and chemical changes in the environment.

METHOD.

The organs used were principally duodenum, colon and uterus of rabbits previously starved for 24 hours. In some experiments, cat duodenum and uterus were employed. In general, cat tissues responded similarly to those of rabbits. Dog ureter and uterus, guinea pig uterus and rat intestine were used in a few instances. After bleeding from the carotid, the entire uterus and the duodenum of rabbits and cats, and a portion of the colon from rabbits just distal to the fusus (10) were removed, rinsed in Tyrode solution and placed on ice in separate 2 ounce bottles. As needed, lengths of about 1-1/2 cm. were cut from these tissues with scissors ; in case of the intestine, any contents were gently massaged out, and the tissue washed in Tyrode before placing into the bath. Any visible blood clinging to the uterus was also removed by washing in Tyrode before adjusting the strip. The Magnus strip method was used throughout ; a special constant temperature bath (11) of 50 cc. capacity being employed with the strip adjusted to a Harvard heart lever for recording contractions of the longitudinal muscle. The weight of the long arm of the lever was usually sufficient to counter balance the duodenal strips, but the colon and uterus usually required added weighting with a 1/2 gram length of copper wire at an appropriate distance of 2 to 5 cm. from the fulcrum. Air was bubbled through the bath except where the effects of asphyxia were investigated. Three such preparations in separate baths were operated at the same time. Tyrode solution (*) containing 0.1 per cent. dextrose was employed throughout.

(*) The composition of the Tyrode solution was as follows : 0.8 per cent. NaCl, 0.02 per cent. KCl, 0.02 per cent. $CaCl_2 . H_2O$, 0.1 per cent. $NaHCO_3$ and 0.005 per cent. $Na_2HPO_4 . 12H_2O$. In a part of the work the acid-phosphate was used without change in pH and influence on activity and altered responses of the smooth muscles strips.

The altered environment of the smooth muscle was produced by the addition of agents, or conditions, according to their own, proved or supposed physical and chemical effects on the medium (Tyrode's solution) bathing the muscles, or on the tissue itself. For example, agents were chosen for their ability to alter surface tension, viscosity, hydrogen ion concentration, ion balance, lipoid solubility, etc. Many agents had more than one such action. The concentrations of certain agents employed were those occurring in blood after intravenous injection and of others enough to produce definite physical or chemical changes in the Tyrode. These latter changes were controlled whenever possible.

The seat of action of effective altering agents or conditions was determined pharmacologically. That is, nicotine was employed to eliminate ganglia from the action, atropine for parasympathetic endings and ergotoxine or apocodeine or both for sympathetic endings. For instance, if a stimulant action persisted after nicotine and atropine but was removed by papaverine, it was concluded to be on muscle. If it was abolished by atropine it was either due to stimulation of ganglia or endings of the parasympathetic, but if it was abolished by nicotine, the action was on ganglia. The procedure with the sympathetic nerves was somewhat similar, except that ergotoxine or apocodeine was employed. If the action of the agent persisted after ergotoxine, which paralyzed the sympathetic endings (the only structures of this nervous system left in excised organs), especially of the uterus, it was on the muscle; and after apocodeine, on the intestine. However, apocodeine was employed in a few instances only, since it depressed the muscle of the rabbit intestine more quickly than it did the sympathetic endings.

The test drugs for eliciting responses of the smooth muscle and their end concentrations in the bath employed were epinephrine hydrochloride, 1 : 50,000,000 to 1 : 25,000,000; pilocarpine hydrochloride, 1 : 2,000,000 to 1 : 1,000,000 and barium chloride, 1 : 50,000 to 1 : 25,000. These drugs were selected because of their well known stimulant actions on sympathetic endings, and muscle, respectively; that is, upon the three points of stimulation of smooth muscle. The muscular responses were as follows; with epinephrine stimulation or inhibition of uterus according to species and functional state, and inhibition of intestine; with pilocarpine, stimulation of intestine and with barium stimulation of intestine and uterus. The concentrations used were the just effective concentrations for the individual strips of smooth muscle.

The routine procedure of applying autonomic drugs and altering agents was as follows; first, the type and degree of response of each muscular strip to each autonomic drug was determined until a satisfactory or constant control was obtained. This usually required about three applications, removing the drug by washing each time. After washing out the last autonomic drug application, the altering agent was introduced into the bath and its effect observed. Then after a period of about 3 minutes the autonomic drug was reapplied to determine the effect of the altering agent on the drug response. In many instances, the altering agent was also applied during the height of autonomic drug response. This routine was repeated on different strips from the same and different animals until the evidence, whether negative or positive, was satisfactory. Upwards of 2,000 tests of about 400 strips of excised organs were employed. The organs were obtained from 76 animals, (41 rabbits, 25 cats, 6 dogs, 1 guinea pig and 3 rats), and trials with each altering agent were made

on the organ from an average of 3 different animals, and with impoitant agents, 6 animals.

Obviously, great care and precision in the conduct of the tests were necessary. It was observed that fresh strips of rabbit and cat duodenum and rabbit colon responded as a rule to lower concentrations of epinephrine, pilocarpine and barium than did strips kept on ice from 16 to 24 hours. Sometimes it was necessary to wait until the second day before a colon would relax and exhibit spontaneous movements and respond to drugs. Since uterine tissue retained its activity better than the intestinal, experiments on the duodenum only were made the first day, 3 preparations being used at the same time. On the second day, 3 strips, one each of duodenum, colon and uterus, were studied simultaneously, while on the third day, uterine strips alone were employed. The activity of the uterus, and its response to drugs, generally improved up to the third day. A fresh strip of duodenum, or a strip of uterus on the second day, was occassionnally used for from 4 to 7 hours continuously, provided it had not been poisoned by some markedly toxic drug, such as copper sulphate. The tests on such strips were always supplenlented by tests on previously untreated strips.

Responses of the colon.

The movements of isolated segments of small intestine and uterus of rabbits and cats are so well known that no further description is needed here. Rabbit's colon has not been so widely studied. A brief description of its activity and response to drugs, therefore, may be of interest and of assistance in interpreting the results.

A strip of colon is usually in a tonically contracted state during the first 4 to 10 hours after removal from the body, and does not exhibit spontaneous contractions in the bath. However, on the second day the strip exhibits spontaneous contractions within from 10 minutes to 1 hour after immersion in the bath. The excursions of the recording lever are from 2 to 4 times those produced by the duodenum ; the rate is much slower, and the tonus is apparently at a minimum. An active strip shows spontaneous changes in rate and amplitude and sometimes gives responses to drugs that are difficult to interpret. Occassionally, the are rhythmic changes in tonus. As a rule, the colon responds to smaller concentrations of epinephrine than does the duodenum, the effect consisting of inhibition of contractions, with little or no change in tonus. Failure of epinephrine to lower the tonus is probably due to the relatively weak or slight tonus of this organ. The colon reponds to pilocarpine and to barium by an increase in tonus and rate, and occassionally by an increase in amplitude of contraction. The minimal effective concentration of these two drugs is about 1/2 to 1/3 lower for the colon than for the duodenum. The latent period between application of a drug and response of the colon is longer than that of the duodenum. It would seem that the reponsse of the colon to lower concentrations of drugs does not fit in well with the gradient theory of ALVAREZ (12) ; the long latent period, however, was described by ALVAREZ in support of his theory.

Types of altered responses.

The actions of the automomic drugs used, namely epinephrine, pilocarpine and barium, were found to be increased, decreased, pre-

vented or reversed by the changed conditions in the environment. That is, the alteration was quantitative or qualitative or both. If the agent or condition and the automomic drug acted in the same direction, the response to both was usually in the nature of asummation. On the other hand, a summation was not a necessary result of the application of two drugs acting in the same direction. Thus, the action of choline in the presence of pilocarpine in appropriate concentration was only slightly more than that of pilocarpine alone. This latter effect is analogous to the decreased blood pressure response to epinephrine when the vascular tonus is high. More interesting were the instances in which an agent acting similarly to the drug would potentiate the latter, or sensitize the tissue, so that the response to the drug was more than an ordinary summation. Sensitization was observed also with agents having no demonstrable effect, or an opposite effect to that of the autonomic drug. A familiar example of sensitization is the increased response of blood pressure to epinephrine in animals receiving practically ineffective doses of cocaine, due to the sensitization of the sympathetic nerves by cocaine. A decreased response to a drug was usually an additive phenomenon, due to an opposite action of the agent or condition. A decrease also resulted from treatment with an agent having little effect on the movements of the muscles (desensitization). Depression of tonus or amplitude by an agent did not always prevent a complete response to a stimulant autonomic drug, nor did an augmentation of activity by an agent necessarily prevent the complete depressant action of a drug. Antagonism, therefore, was not always the result of treatment of a muscle strip with oppositely acting agents and drugs.

Reversal of drug response from stimulation to depression, and vice versa, was occasionally observed. The classical example of a reversal of drug action by another drug is the reversal of epinephrine action on excised uterus and blood vessels and on blood pressure by ergotoxine due apparently to paralysis of the augmentor sympathetic impulses. The results of certain experiments to be described indicate that the reversal of action of a drug may be due also to a more peripheral action of an agent. On the other hand, spontaneous changes in tonus or amplitude sometimes modified the changes in response of the intestine and uterus to the autonomc drugs used. There was evidence that tonus changes in the uterus conditioned an occasional reversal of response. That is, a strip in a state of high tonus was sometimes depressed, for example, by epinephrine, while the same strip in a state of low tonus was stimulated by this drug. It is known that the functional state, especially the state of tonus, is an important factor in determining the response of functions and structures to drugs. A well known example is the response of bronchi to epinephrine, which has no demonstrable action on the normal or untreated bronchi, but

if the bronchi are previously constricted by any excitant, epinephrine relaxes them as it does in asthma, irrespective of the cause. Such tonus changes, or in fact changes in any functional state, may indeed arise from physical and chemical changes in the environment, and then the organ, or muscle, gives an altered response (increased, decreased or reversed) to a stimulus such as an autonomic drug.

RESULTS.

Temperature changes.

Changes in the temperature of the bath (38° C.) were not caused by the addition of the agents. When they occurred they were almost invariably due to variations in the electric current supplying the warming apparatus. It was, therefore, necessary to determine the effect of these temperature variations. ALVAREZ (13) and others state that variations of a tenth of a degree are important. While it is true that a change of one half degree altered the tonus of certain strips of rabbit duodenum temporarily, the other tissues were unaffected by this change. Cat tissues responded only to changes greater than one degree. A rise or fall of even 2 degrees, if gradual, had little effect on the activity of isolated strips, or on their response to the autonomic drugs. These observations were made during the course of the general study, and also in experiments planned for the purpose.

On the other hand, a sudden rise of from 1 degree to 3 degrees lowered the tonus of rabbit duodenum in all of the 9 trials made. The response of the tissues to pilocarpine and barium increased from 5 to 10 per cent., but the action of epinephrine was practically unchanged. A sudden fall of from 1 to 3 degrees raised the tonus, and decreased the action of pilocarpine and barium from 5 to 15 per cent.

A rise of 2 degrees raised the tonus of uterus slightly, but had no effect on the response to epinephrine and barium. Lowering the temperature to 36 degrees lowered tonus slightly and slowed the rate. The response to barium was decreased 10 per cent. These changes were therefore relatively small and unimportant and a close watch of the bath avoided any minor complications due to temperature variations. Changes of 10 per cent. and higher from altering agents in response to autonomic drugs were considered significant, but all changes under 10 per cent. were disregarded since they fell within the range of experimental error and of variability of muscular response.

Hydrion concentration.

Effects due to changes in hydrion concentration (pH) were studied by introducing acids or alkalies into the bath and by exchange of the ordinary Tyrode solution for one of different pH. The ordinary Tyrode

solution used had a pH of 8.1, but soon after warming and aeration the pH rose to 8.4, presumably due to a conversion of the bicarbonate to carbonate. When acids were introduced so as to lower the pH to a value between 6.5 and 8, the change obtained was only temporary for the liberated CO_2 was removed during aeration, thus causing a return of the pH to from 8.0 to 8.4.

Acids. Hydrochloric, lactic, acetic and boric acids, and sodium

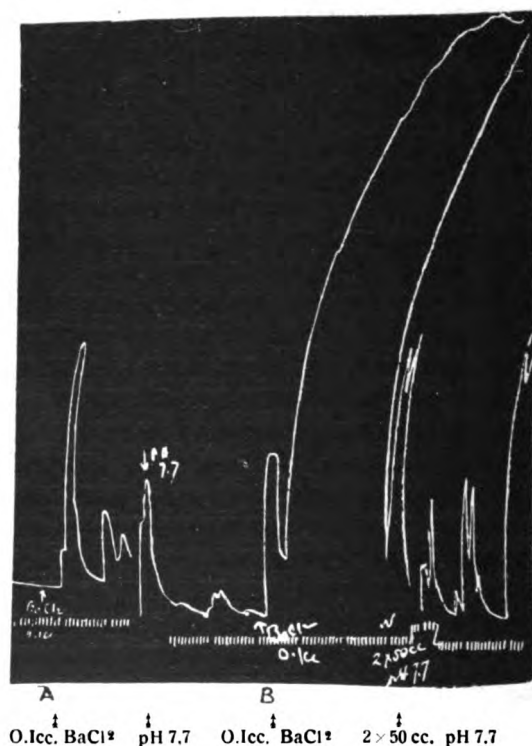



Fig. 1.

Augmentation of Barium (1 : 50,000) Stimulation of Rabbit Uterus in Tyrode of pH 7.7 (B) as Compared with the Control on the Same Strip in Ordinary Tyrode of pH 8.4 (A). Reduced to 1/4.

All tracings read from left to right. Concentrations in the legends refer to end concentrations in the Tyrode bath. Abbreviations have meanings as follows: epi = epinephrine; W, 1, 2 or 3 × 50 cc. = washed with 50 cc. of Tyrode solution once, twice or three times. Time in all records; each stroke = 5 seconds.

acid phosphate were tried. With a given lowering in pH, the effects on the muscles were the same regardless of the acid used. A drecrease in pH to 6.0 always resulted in a rise in tonus of strips of duodenum and uterus of the rabbit, with recovery to the normal level as the pH increased spontaneously to 8.4. A pH of 5.5 with hydrochloric and acetic acids appeared to be the critical level, since there was a tem-

porary rise in duodenal tonus followed by a fall, with cessation of activity. At a given pH there was no difference between the action of organic and inorganic acids, contrary to the results of OLMSTED and MAC ARTHUR (14) on cilia whose activity was depressed more by acetic than by hydrochloric acid. When modified Tyrode of low pH (7.5 to 8.0) was substituted for the ordinary Tyrode solution, an increase in amplitude of the duodenum occurred with Tyrode of 7.7

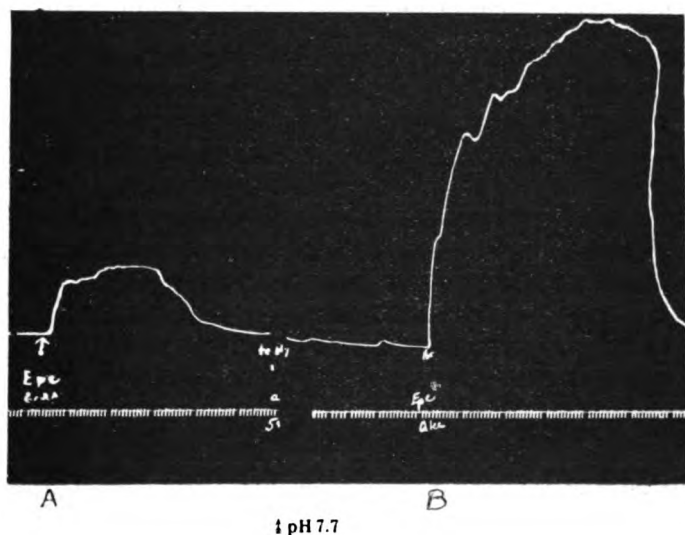



Fig. 2.

Sensitization of Rabbit Uterus to Epinephrine (1 : 25,000,000) in Tyrode of pH 7.7 (B), as Compared with the Previous Action of the Same Concentration of Epinephrine on the Same Strip in Ordinary Tyrode of pH 8.4 (A). Reduced to 1/3.

to 7.8, and a decrease or no change with solutions of 8.0 and 8.1. The amplitude of the uterus was increased from 10 to 20 per cent. in 8 out of 9 experiments in which the pH was changed from 8.1 to 7.5 to 7.8.

The response of the duodenum to epinephrine, pilocarpine and barium was unchanged or slightly increased (not more than 10 per cent.) on lowering the pH to the range between 7 and 8. Reducing the pH to 5.5 prevented the response of the duodenum to these drugs. In 5 experiments with rabbit uterus in wich modified Tyrode of pH 7.6 to 7.8 was substituted for ordinary Tyrode, the responses to epinephrine and barium were markedly increased. These increases were especially marked after washing with the modified Tyrode and repeating the applications of epinephrine and barium. A marked increase in response of the uterus to barium in Tyrode of pH 7.7 is shown in Figure 1 and to epinephrine in Figure 2.

Hence, the activity of smooth muscle and its response to the auto-

nomic drugs used was greater at a pH of 7.6 to 7.8 than at 8.1, the pH of ordinary Tyrode solution. That is, a slightly more acid environment (Tyrode) was more favorable to the functional activity of the uterine and intestinal muscles, and to the response of uterus to autonomic drugs. These results were in harmony with those of ALPERN (15) who reported sensitization to epinephrine of vessels perfused with Ringer-Locke solution of a pH of 7.8 to 8.1.

Alkalies. Increases in pH of Tyrode were produced by adding sodium hydroxide, sodium bicarbonate and sodium carbonate. An increase in pH up to 8.7 from sodium bicarbonate always resulted in an increase in tonus or amplitude of rabbit duodenum and uterus. Eleven strips of rabbit duodenum responded variably to the addition of sodium hydroxide up to pH 9.0, 6 being stimulated and 5 depressed. Sodium carbonate up to pH 10 caused some stimulation of uterine and no change in duodenal strips. Hence, pH changes up to 9 and 10 from the hydroxide and carbonate gave variable and uncertain muscular changes, while the bicarbonate appeared to be a constant stimulant.

The response of 8 of the duodenal strips to epinephrine in the presence of all the alkalies used was variable, being increased, decreased and unchanged, while the responses of the majority of 6 to pilocarpine were decreased and to barium increased. The uterus also gave variable results.

The results as a whole obtained on intestine and uterus indicate that a wide range of hydrogen ion concentration is compatible with muscular activity, but that an alkalinity somewhat less than that of ordinary Tyrode solution, i. e., pH 7.6 to 7.8, favors it. Higher degrees of alkalinity give uncertain results, depending on the alkali used. Bicarbonate gave consistent augmentation. Consistent alterations in autonomic drug responses occurred only with the lower degree of alkalinity on the uterus, a similar tendency existing in the results of ACTON and CHOPRA (16) with epinephrine and related drugs on the uterus of different species.

Mineral ions.

The relation of mineral ions to the activity of various tissues has been studied by many investigators with the main emphasis on calcium and potassium. These and other ions likely to cause certain changes were used for the study of altered responses of the smooth muscles to the autonomic drugs.

Increase in Calcium. Doubling the calcium content of the Tyrode, that is, raising it from 0.02 to 0.04 per cent., resulted in a marked decrease in amplitude of 6 out of 8 duodenal strips, and lowered the tonus of 2. A gradual recovery took place during a period of 10 minutes or more. On increasing the calcium to 0.06 per cent. with 8 strips of rabbit uterus, whose tonus was raised by epinephrine, there was an

increase in tonus of 4 and increase in amplitude of 3 of the 8 strips, only one strip being unaffected. In like manner, increase in calcium lowered the tonus or decreased the amplitude of strips of rabbit uterus which responded to epinephrine by decrease in tonus or amplitude. These results agree with those of HAYAKAMA (17) with calcium.

On the other hand, an increase in calcium acted oppositely to epinephrine on 6 strips of rabbit colon and 11 strips of cat duodenum, the action being an increase in tonus or amplitude instead of a

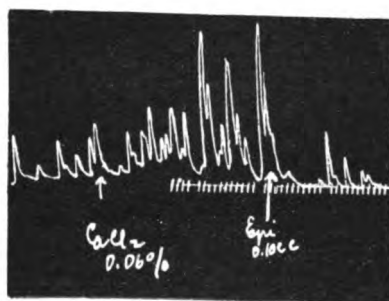



Fig. 3.

Stimulation of Cat Duodenum by Calcium (0.06 per cent.) and Inhibition with Depression by Epinephrine (1 : 25,000,000). Reduced to 2/3.

decrease. Figure 3 illustrates the opposite actions of calcium and epinephrine on cat and duodenum.

Non-pregnant uteri of 2 dogs and 3 cats were depressed by epinephrine, but stimulated by calcium. The pregnant uteri of 2 cats were stimulated. The rate of contraction of a dog's ureter was increased by an increase in calcium. The opposite actions of epinephrine and calcium on cat uterus were reported by TATE and CLARK (18). The augmentor action of calcium on rabbit colon and duodenum, cat colon and non-pregnant uterus did not support the theory of ZONDEK (19) who claims a close relationship between calcium action and sympathetic stimulation.

The action of calcium on the duodenum, uterus and colon was unaffected by nicotine, atropine and ergotoxine, and therefore was muscular. Apocodeine, however, reversed the action of calcium on 3 out of 5 strips of cat duodenum, but not of colon. Figure 4 illustrates the apocodeine reversal of calcium inhibition to stimulation of duodenum. The concentration of apocodeine employed did not cause sympathetic paralysis as indicated by positive responses of the organs to epinephrine.

Colloidal calcium phosphate, prepared according to the method of DE TORI (20), had no effect on excised smooth muscle of intestine and uterus. HEUBNER (21) reported that colloidal suspensions of insoluble cal-

cium salts gave symptomatic effects on injection similar to, though more efficient than, those of soluble calcium. However, these effects were also produced by colloidal silica, and appeared to be concerned with the colloidal state of different agents.

An increase in calcium of 100 per cent. increased the action of epinephrine on rabbit duodenum and uterus, but antagonized the action of epinephrine on rabbit colon and cat duodenum. The

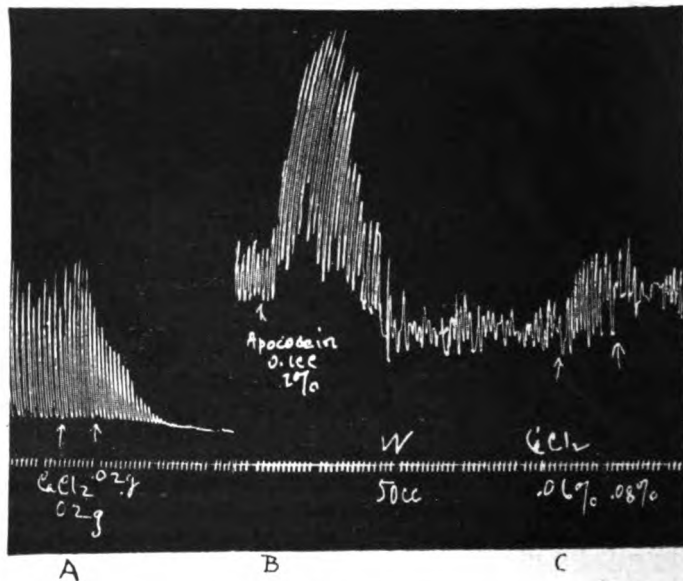



Fig. 4.

Reversal of Calcium (0.06 per cent.) Inhibition to Stimulation of Rabbit Duodenum by Apocodeine (1 : 25.000). At « A » control showing typical inhibition of duodenum of another rabbit ; « B » shows stimulation by apocodeine, and « C » calcium stimulation after apocodeine, and washing. The control record for « B » and « C » was lost, but showed the same depression as at « A ». Reduced to 1/2.

actions of pilocarpine and barium were decreased on the rabbit duodenum and increased on the rabbit colon and cat duodenum. Barium action on the rabbit uterus was either increased or decreased, depending on the direction of calcium action on the strip. These alterations in response to drugs by calcium were additive in all instances.

Decrease in Calcium. The addition of sodium oxalate or sodium citrate to the bath decreased both tonus and amplitude of rabbit duodenum, colon and uterus and of cat duodenum and uterus. Sodium oxalate, in amount theoretically sufficient to precipitate the calcium of the Tyrode solution, markedly inhibited the activity. The same effect occurred in a calcium free Tyrode. Sodium citrate was still

less effective than sodium oxalate in twice the equivalent amount. The effects of calcium deprivation were least marked on the colon. The addition of calcium to the calcium-free bath resulted in sudden stimulation of the muscle with gradual return to the control level.

The responses to epinephrine, pilocarpine and barium in the absence of calcium were greatly diminished. The inhibitory action of epinephrine was prevented by the absence of calcium only when the muscles were markedly depressed. In no instance was the stimulant action of epinephrine on the uterus prevented in the absence of calcium. In only 2 out of 15 experiments did the tissues fail to respond to the action of barium and pilocarpine in calcium-free Tyrode. The results of these experiments showed conclusively that calcium was not indispensable to autonomic drug action.

Increase in Potassium. The generally reported stimulation of rabbit intestine and the uterus of rabbit, cat and guinea pig by potas-

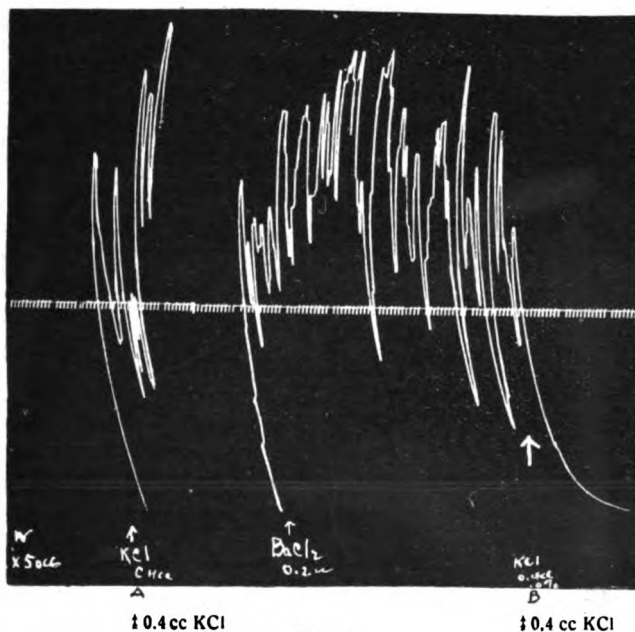



Fig. 5.

Antagonism of Barium Stimulation (B) of the Same Strip of Non-pregnant Rabbit Uterus by Potassium (0.1 per cent.), which Caused Initial (A) and Subsequent Stimulation, the Latter not Shown in the Figure. Reduced to 2/5.

sium was confirmed. However, the stimulation of rabbit colon was preceded by depression, and the same and other smooth muscle of other species was depressed. For instance, the amplitude of contraction of cat duodenum was decreased 10 times, the tonus was decreased

3 times and the rate 7 times out of 10 trials made on 9 strips from 7 cats. The increases in potassium of the Tyrode used ranged from 100 to 300 per cent. (Ordinary Tyrode contains 0.02 per cent. potassium chloride). The tonus of 2 strips of a multiparous, non-pregnant dog uterus was lowered by a potassium concentration of 0.06 per cent., with gradual recovery; and after 5 minutes, there was an increase in tonus. Concentrations of 0.04 per cent. and 0.06 per cent. caused a permanent fall in tonus of 2 strips of virgin dog uterus. The rate of contractions of a strip of dog ureter was decreased by increase in potassium. Epinephrine lowered the tonus of the same dog uterus and increased the rate of contractions of dog ureter.

Increasing the potassium content of the Tyrode had only an additive effect on subsequent responses of the tissues to the autonomic drugs. However, the addition of potassium during drug response was noteworthy. An increase in potassium chloride to from 0.04 to 0.06 per cent. invariably removed (reversed) the barium contraction of 5 strips of non-pregnant rabbit uterus, and the pilocarpine contraction of 1 strip each of rabbit pregnant and non-pregnant uterus, and rabbit duodenum and guinea pig uterus. The antagonism of barium by potassium on uterus is illustrated in Figure 5. The epinephrine contraction of 6 strips of non-pregnant rabbit uterus was invariably affected by potassium, being increased 4 times and decreased 3 times. Addition of potassium removed the stimulation of rabbit uterus by bile salts. In line with the reversals was the augmentation of pilocarpine stimulation of cat duodenum, which was originally depressed by the potassium. A summary of the direct actions of calcium and potassium is presented in Table 1.

TABLE I.

Summary of Actions of Calcium and Potassium on Smooth Muscle (*).

	Rabbit			Cat		Dog		Guinea Pig
	duodenum	colon	uterus	duodenum	uterus	uterus	ureter	uterus
Calcium	—	+	±	+	+	+	+	+
Potassium	+	+	+	—	—	—	—	not tested

(*) The signs have meanings as follows; + = stimulated, — = depressed.

The results with potassium cannot be reconciled with ZONDEK's theory of indentity of ion action with nerve stimulation, just as the case of calcium and sympathetic action discussed above. Potassium action and parasympathetic stimulation were not similar in the majority of organs supplied by the parasympathetic system. Moreover, potassium cannot be considered a universal smooth muscle stimulant, because of its depressant action on cat duodenum and dog uterus and ureter, and because of its ability to antagonize contractions of smooth muscle caused by autonomic drugs.

Potassium-free Tyrode: Immersing smooth muscle organs of the rabbit in potassium-free Tyrode lessened the amplitude of contraction of 7 out of 9 strips of uterus and intestine, the tonus being variably or not at all influenced.

The actions of epinephrine, pilocarpine and barium on the rabbit

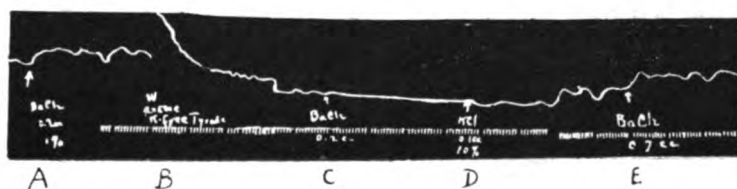



Fig. 6.

Reversal of Barium Response of a Strip of Non-pregnant Rabbit Uterus in Potassium-free Tyrode Solution. « A », stimulation by barium (1 : 25,000) in ordinary Tyrode . « B », washing and activity of strip in potassium-free Tyrode; «C», reversal (inhibition and depression) of Barium action on the same strip in K-free Tyrode ; « D », restoration of strip's activity with potassium, and « E », subsequent stimulation by barium after washing in ordinary Tyrode. Reduced to 1/5.

duodenum and colon were slightly decreased or unaffected in potassium-free Tyrode. Barium stimulation of 4 strips of uterus was markedly decreased and reversed. The reversal of barium action did not occur when both potassium and calcium were absent. A reveısal of barium stimulation to inhibition of the uterus in potassium-free Tyrode is illustrated in Figure 6.

Potassium, therefore, was not indispensable to the ordinary action of the three autonomic drugs used on the rabbit duodenum and colon, but was essential to the barium action on uterus.

Calcium-potassium Balance. Potassium and calcium were found to be mutual antagonists for rabbit and cat duodenum, and uterus, though more regularly for the duodenum than uterus. Potassium antagonized the action of calcium on the uterus more frequently than was the case vice versa. An illustration of the mutual antagonism on a uteıine strip, which responded to each ion separately by augmentation,

is presented in Figure 7. In 8 out of 10 trials, the addition of calcium and potassium singly increased the stimulation due to the other on the rabbit colon, although when potassium followed calcium, there was always a short period of partial relaxation lasting from 15 to 60 seconds before the increase in contraction occurred.

CLARK (22) observed that calcium and potassium were mutual antagonists for the perfused frog heart and that the effects of increase

↑ $CaCl_2$ 0,06 % ↑ KCl 0.06 %

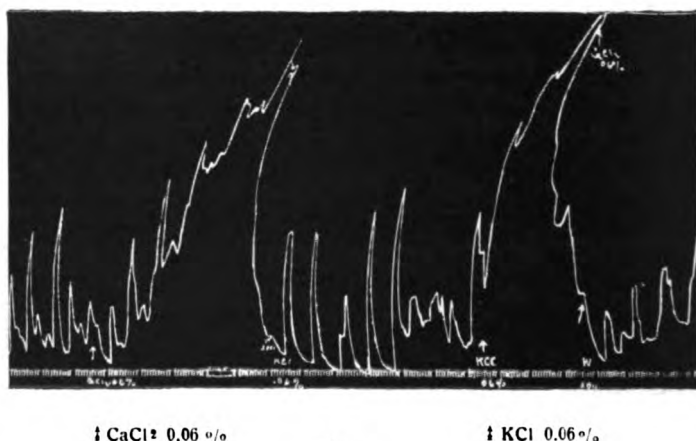



Fig. 7.

Antagonism of Actions of Calcium (0.06 per cent.) by Potassium (0.06 per cent.) and of Potassium by Calcium on Rabbit Uterus. Reduced to 1/10.

in one element would be simulated by a decrease in the opposite element. In other words, a change in the $\frac{Ca}{K}$ ratio, so long as both elements were present, was more important than the absolute change of either element. The results obtained by me with smooth muscles of cat and rabbit intestine and uterus were different. A removal of one-half the calcium ions by precipitation with oxalate, thus decreasing the $\frac{Ca}{K}$ ratio, resulted in depression instead of stimulation. A more extensive study of these ions on many tissues than could be made here is indicated before certain theories of their action singly and in balance are fully justified.

Fluoride. Sodium fluoride in concentrations of from ½ to 1 ½ times the equivalent of the calcium of the Tyrode solution increased the tonus of 6 out of 7 strips of rabbit duodenum and uterus of 7 animals. The amplitude of contraction of 1 strip each of duodenum and uterus was increased and of 2 strips of uterus was decreased. The rate of 2 uterine strips was increased. Complete recovery occurred on washing.

The fluoride action was unchanged by previous treatment of the strips with nicotine, atropine and ergotoxine, and therefore, was muscular. The stimulant action of fluoride on the majority of muscles was in contrast to the depressant action of oxalate and citrate. The addition of fluoride to Tyrode solution in a test tube, formed a precipitate that was just discernible to the naked eye, and much less marked than the precipitate caused by oxalate. This suggested that the stimulant action was due to unprecipitated fluoride.

Fluoride lessened the epinephrine depression of 2 strips of duodenum, and of only 2 out of 5 strips of uterus. In no instance was the response of the intestine to pilocarpine or of the uterus to barium altered more than 10 per cent., the change being usually a slight increase in action of the drug, and therefore, the alterations of autonomic drug response were unimportant.

Magnesium. RAEDEMAKERS AND SOLLMANN'S (23) report of the depressant action of magnesium on isolated intestine has been confirmed by the following results. Doubling the magnesium content of the Tyrode bath resulted invariably in depression of tonus and less often in decreased amplitude of the contractions of rabbit duodenum, colon and uterus. Nicotine and atropine did not prevent the action of magnesium on the intestine, and therefore, it was muscular.

Magnesium chloride diminished the contractions of intestine and uterus produced by epinephrine, barium, pilocarpine, histamine and lecithin. At least 2 trials were made with each of these drugs. The percentage concentration of magnesium chloride required to relax a barium contraction, or a contraction of equal degree due to other drugs, was approximately 10 times that of the barium. When magnesium was added to the bath before the autonomic drugs, its effects on drug response was not as marked as when it was added during the response to autonomic drugs, although qualitatively the effects were the same.

Calcium antagonizes the depressant action of magnesium so strikingly in the intact organism that it was tried on the magnesium action on smooth muscles. Calcium chloride was added to the bath in concentrations of from 0.01 to 0.1 per cent. during magnesium depression of the duodenum. The depression was merely increased. On the other hand, an increase in calcium antagonized the magnesium depression of the colon, the antagonism being probably due to the stimulant action of calcium on this viscus. Hence, it appears that a calcium-magnesium antagonism does not exist for excised smooth muscle organs as it does for the narcotic and other effects of magnesium in the intact organism.

Changing from ordinary to magnesium-free Tyrode increased slightly the tonus and amplitude of one out of 3 strips of rabbit duodenum, and their responses to epinephrine, pilocarpine and barium were unchanged.

Phosphates. Increasing the phosphates of the Tyrode bath 100 per cent. and 200 per cent. by adding a buffer mixture of mono- and disodium phosphates of the same pH as the bath (pH 8.4) had no influence on the activity, or response to epinephrine, of 5 strips of duodenum and 3 strips of uterus. The responses of the duodenum to barium and pilocarpine were slightly decreased in one trial with each drug. ST. WEISS (24) reported a decreased sensitivity of man to epinephrine after the administration of phosphates, while LEITES (25) found phosphates to have the opposite effect in animals. Apparently the effects in the intact organism are not uniform, and excised intestine and uterus are unaffected by the phosphate ion.

Lipoids.

Lipoids play an important rôle in the functioning of muscular and nervous structures. The following results indicate that they exert marked effects on excised smooth muscle and can alter its response to autonomic drugs.

Cholesterol. The effects of cholesterol have been reported in a preliminary communication (26). A brief summary will suffice here. The addition of 1 cc. of a saturated solution of cholesterol to the Tyrode bath (end concentration of cholesterol about 1 : 5,000,000), usually stimulated duodenum and uterus characterized by an augmentation of amplitude and less often an increase in tonus or rate of contractions. The same effects were obtained with an emulsion containing about 1 : 50,000 of cholesterol and prepared as a 0.1 per cent. emulsion according to the method of T. B. ROBERTSON (27). Nicotine and atropine did not abolish the stimulant action of cholesterol, but it was prevented by apocodeine and ergotoxine. The antagonism by apocodeine and ergotoxine was not concerned with sympathetic paralysis, for the strips still responded to epinephrine, but not to barium. Since the muscular activity was depressed by apocodeine and ergotoxine, the action of cholesterol was not demonstrable as might be expected. From the entire analysis it was concluded that the cholesterol stimulation was concerned with muscle itself.

Twelve out of 16 strips of duodenum and colon treated with cholesterol exhibited an altered response to epinephrine, characterized by a decrease in degree and duration of action. Cholesterol decreased the inhibitory and depressant action of epinephrine on 19 out of 22 strips of uterus, while the action on 3 strips was reversed from depression to stimulation. The 3 strips that failed to show alteration of epinephrine response by cholesterol were from rabbits, all the cat uteri showing the alteration. Cholesterol increased the epinephrine response of 1 strip of rabbit uterus which was stimulated by epinephrine. The

actions of pilocarpine and barium were not demonstrably altered by cholesterol, contrary to the claims of VAN LEEUWEN and GYÖRGI (28) who reported augmentation of pilocarpine action.

The presence of a trace of choline in the cholesterol might be responsible for the effects of the latter. Therefore, the response of 2 strips each of intestine and uterus to autonomic poisons was tested in the presence of choline. In one instance each, the stimulant action of epinephrine and of barium on the uterus was increased. A concentration of choline just sufficient to increase the amplitude of contractions of the duodenum had no influence on the response of the intestine to drugs. Another group of substances which might be present in cholesterol are fatty acids. Traces of soap (less than 1 : 20,000) added to the bath had no effect whatever on the excised organs. Hence, it appears from all this that the actions resulting from the treatment of the excised organs with cholesterol were due to the cholesterol itself; and the only important change conferred on the Tyrode solution by cholesterol was a lowering of surface tension.

The augmentor effects of cholesterol on smooth muscle obtained by me agree with those of HANDOVSKY (29) who reported constriction of perfused vessels. This investigator found that the intravenous injection of exceedingly small quantities of sodium chloride (0.35 Gm) or dextrose (1 Gm.) in human objects responding with symptoms of tremors, etc., resulted in an increase in the ether extractable cholesterol of the blood, the same change occuring also on the addition of sodium chloride and dextrose to beef serum in vitro. It is at least conceivable, therefore, that altered responses to drugs; and certain allergies, may be fundamentally concerned with physical-chemical changes in blood as indicated by the increase of ether extractible cholesterol, which may be taken as evidence of « hemoclasia » or « colloidoclasia. »

Kephalin. A 5 to 15 per cent augmentation of amplitude of contractions of 14 strips of rabbit intestine and of 6 out of 10 strips of rabbit intestine and of 6 out of 10 strips of uterus was caused by kephalin in concentrations of from 1 : 100,000 to 1 : 25,000. The tonus of 10 strips of uterus and 10 strips of intestine was raised 3 to 15 mm. Kephalin itself caused stimulation of 8 atropinized strips in 10 out of 14 trials, but 5 applications to 2 nicotinized strips were ineffective suggesting that the stimulation in these strips was ganglionic though in the majority it was muscular.

Concentrations of kephalin insufficient to stimulate the muscle sensitized each of 4 strips of rabbit intestine to pilocarpine, the increase in response averaging 15 per cent. VAN LEEUWEN and GYÖRGI (30) reported a much greater augmentation of pilocarpine action on cat intestine by kephalin. The alteration of the action of

epinephrine and barium by kephalin on 9 strips of intestine and uterus was variable and within the range of spontaneous changes.

Lecithin. Commercial preparations of lecithin in concentrations of from 1 : 50,000 to 1 : 5,000 caused an increase in tonus or amplitude or both of contractions of 14 out of 19 strips of intestine and uterus. The tonus effects on the uterus were very marked. Atropine and nicotine on the intestine, and ergotoxine on the uterus, failed to prevent the stimulation. Therefore, it appeared to be due to stimulation of smooth muscle directly. VAN LEEUWEN and GYÖRGI (30) reported that lecithin acted on the intestine qualitatively the same as kephalin, but quantitatively less. This action of lecithin was thought to be due to kephalin occuring in commercial samples, for especially purified lecithin had no such action, but, on the contrary, antagonized the action of kephalin.

No alteration in the response to autonomic druggs of 7 strips of intestine and uterus was caused by lecithin in concentrations just sufficient to stimulate (1 : 50,000 and less).

Soap. A moderate increase in tonus or amplitude of rabbit and cat intestine and uterus was caused by soap in concentrations of from 1 : 20,000 to 1 : 10,000. Higher concentrations (1 : 5,000) always depressed. The alkalinity of the bath increased with the concentration of the soap as indicated by the fact that the pH of the Tyrode was increased from pH 8.1 to 8.5 by a : 20,000, to pH 8.6 by 1 : 10,000 and to pH 8.75 by 1 : 5,000 of soap. The stimulation by the lower concentrations of soap were due to the alkalinity, since corresponding pH changes caused by the addition of sodium bicarbonate also stimulated the intestine. The depression from higher concentrations was due to decalcification of the Tyrode solution, since the addition of an equivalent amount of calcium chloride restored the strips to their original activity. Nicotine and atropine on duodenum and ergotoxine on uterus did not prevent the stimulation of these organs by soap. Hence, it was muscular.

The alterations of autonomic drug response by soap were most pronounced with epinephrine. An increase of from 10 to 20 per cent. in epinephrine action on 8 out of 12 strips of rabbit intestine was caused by the application of 1 : 20,000 soap. The stimulant action of epinephrine was increased 50 per cent. on 2 strips of rabbit uterus, and the depressant action on 2 others was removed.

Although VAN LEEUWEN and GYÖRGI (28) reported sensitization of strips of cat duodenum to pilocarpine by traces of soap, it was found in the present study that only concentrations of soap which stimulated rabbit intestine increased its response to pilocarpine. This was an additive phenomenon. It occurred in 5 out of 6 strips. Barium action on 2 strips of uterus was practically unaltered.

The results with the lipoids indicate that cholesterol, kephalin, lecithin and soap not only stimulate smooth muscle directly, but also alter its response to autonomic poisons. CLARK (22) showed that oleates increase the negative potential of suspended particles and inferred from this that lipoid effects were due to an increase in surface potential, the action being mediated through a reaction with calcium. On the other hand, lipoids are powerful depressants of surface tension, and in view of the similar effects of bile, saponin and camphor on surface tension and muscle function to be described later on, this physical change should be considered in any theory of lipoid action on muscle.

Lipoid solvents.

These agents generally lower the surface tension and alter the lipoids of cell surfaces. Altered responses to drugs, therefore, would be expected.

Ethyl Alcohol. Ethyl alcohol, in concentrations of from 1 : 10,000 to 1 : 200 in the Tyrode, caused an immediate increase in amplitude or tonus of 3 strips of rabbit duodenum. The marked increase in tonus resulting from the higher concentrations was followed in from 1 to 5 minutes by recovery or depression. In a concentration of 1 : 200, alcohol immediately decreased the amplitude of contractions of 1 strip of colon, while 1 : 400 had no effect on 4 strips of uterus.

The pilocarpine response of 1 strip of duodenum was increased by a concentration of 1 : 100 alcohol added during the pilocarpine action, and also on immersion in 1 : 400 alcohol prior to the addition of pilocarpine. A concentration of 1 : 100 alcohol was required to antagonize pilocarpine action. The actions of epinephrine and barium on the duodenum were unchanged by alcohol. The action of pilocarpine on 1 strip of colon was practically unchanged, while the duration of epinephrine inhibition was increased 50 per cent. due probably to the alcohol depression. The autonomic drug responses of uterine strips were unaltered.

Ether. A definite and persistent increase in tonus of 1 strip of rabbit duodenum was produced by a concentration of 1 : 400 ether. In this concentration, ether caused a slight though definite increase in response of duodenum to pilocarpine but not to epinephrine and barium.

Chloroform. The effects of chloroform were similar to those of ether, except that lower concentrations (1 : 20,000) sufficed.

A partial antagonism of epinephrine (summation) occurred in 1 out of 2 strips of duodenum, but both strips were sensitized to the action of pilocarpine. The augmenting effects of chloroform and ether on pilocarpine action agreed with those reported by RYDIN (31).

Acetone. Three strips of rabbit duodenum, one strip of colon and 4 of uterus were treated with acetone. Concentrations of from 1 : 500 to 1 : 200 resulted invariably in a rise of tonus of the duodenum followed by slow recovery. One to 500 depressed the contractions of colon, and of only 1 out of 4 strips of uterus. A concentration of 1 : 1,000 was ineffective.

Pilocarpine action on the duodenum was increased by acetone from 50 to 75 per cent., but only slightly on the colon. The response of uterus to epinephrine and barium was not altered beyond the limits of experimental variation. Acetone differed from alcohol, ether and chloroform in that its altering effects persisted after one washing of the organ.

Isoamyl Alcohol. In addition to its lipoid solvent action, and power to lower surface tension, isoamyl alcohol is said to increase viscosity. The addition to the Tyrode bath of from 1/5 to 1/2 cc. of a satured solution in 0.85 per cent. sodium chloride resulted in a decrease of amplitude of contractions of 9 out of 10 strips of rabbit duodenum, one strip of colon being unaffected. Two strips of uterus were practically unaffected.

The duration of inhibition of the duodenum by epinephrine was prolonged from 50 to 500 per cent. by isoamyl alcohol, the epinephrine action on colon being only slightly increased. With the majority of the strips, the alteration did not occur until after washing. Pilocarpine and barium actions on the duodenum were unaffected, or decreased from 10 to 15 per cent. With the uterus, epinephrine stimulation was increased only 10 per cent. (2 strips) and barium stimulation was variably affected being increased 15 and 100 per cent in 2 strips and unchanged in 2 others. The most outstanding action of isoamyl alcohol was the marked increase in duration of epinephrine inhibition of rabbit duodenum.

Secondary Octyl Alcohol (*Caprylic Alcohol*). One c.c. or more of a saturated solution of caprylic alcohol in Tyrode depressed 3 strips each of rabbit duodenum and uterus.

The only effects on autonomic drug response were additive, namely, a slight increase in the depressant action of epinephrine on the duodenum, and a decrease in the stimulant action of barium on duodenum, colon and uterus, of pilocarpine on the duodenum and colon and of epinephrine on the uterus. The decreased actions of barium, pilocarpine and epinephrine were proportional to the depression due to the secondary octyl alcohol.

The results as a whole indicate that the lipoid solvents tried exhibited both stimulant and depressant actions on uterine and intestinal smooth muscles. In general, the concentration of the agent and its molecular weight determined the preponderant action. That is,

the higher the concentration and the molecular weight the greater the tendency to depression while the opposite determined the tendency to stimulation. These solvents also altered quantitatively the action of the autonomic drugs used.

Amides.

Four amides were studied because of their known surface activity and narcotic action resembling in this respect the anesthetic group of aliphatic hydrocarbons discussed in the preceding section. Tests of surface tension changes produced in Tyrode solution were made with a capillary U-tube previously described by DE EDS (32). Solutions in Tyrode of 1 : 65 acetamide, 1 : 2,000 proprionamide, 1 : 5,000 valeramide and 1/20 saturation of salicylamide caused a lowering of surface tension of 0.6 dynes, 2.4 dynes, 3.0 dynes, and 2.4 dynes, respectively. This indicated that surface effects increased with the increase in size of the molecule.

Acetamide. This amide usually had no demonstrable effect on the smooth muscles in low concentrations. Concentrations of 1 : 250 and over depressed or had no effect on the majority of 14 strips of rabbit duodenum, 3 of colon and 19 of uterus. The depressant action on the intestine was not prevented by nicotine and atropine and was, therefore, probably muscular.

Acetamide caused only small and variable changes in the actions of epinephrine on 11 strips of colon and duodenum, of barium on 4 strips of duodenum and uterus, and of pilocarpine on 2 strips of cat duodenum.

In concentrations of from 1 : 75 to 1 : 50, acetamide altered the epinephrine response of the uterus to depression, the alteration occurring in 8 out of 19 trials on 12 strips. The alteration resembled a reversal and was somewhat peculiar in that only the augmentor action of epinephrine was reversed, and after acetamide only the inhibitory action was obtained. Reversals occurred only with strips in high or moderate tonus. Washing removed the reversal.

Propionamide. Effective concentrations of this amide, i. e., from 1 : 5,000 to 1 : 2,000, caused depression of amplitude or tonus of the majority of strips of rabbit duodenum, colon and uterus. The amplitude of 1 out of 2 segments of cat duodenum and the tonus of only 1 out of 6 strips each of rabbit duodenum and uterus was increased. Depression did not occur in atropinized and was much less marked in nicotinized strips, suggesting a parasympathomimetic action of the amide.

In the majority of instances propionamide in 1 : 2,000 concentration did not change the response of the excised muscles to autonomic

drugs, but pilocarpine and barium actions were at times decreased, and, therefore, these alterations were merely additive.

Valeramide. The actions of valeramide on rabbit intestime and uterus were similar to that of propionamide, except that the effective concentration was less, i. e., about 1 : 5,000, and that depression occurred in nicotinized and atropinized strips. The actions appeared to be muscular.

The changes in the autonomic drug response of the uterus and intestine due to valeramide were additive.

Salicylamide. The depressant concentration of salicylamide varied from 1 /100 to 1 /20 saturation. The depression was muscular, as indicated by the fact that it occurred after nicotine and atropine. There was an increase in amplitude of only 1 out of 2 strips of cat duodenum. All rabbit tissues were depressed.

The effect on autonomic drug response were those of summation only.

The predominant action of the 4 amides tried was depression, and when alterations in autonomic drug response occurred these were due to the depression. In general, the greater the surface activity of an amide, considering the concentration used, the greater and more uniform were the changes in functional activity (depression) of the muscles. For instance, acetamide in much higher concentrations was much less efficient as to surface tension and functional changes than valeramide and propionamide. Out of the group of lipoid solvents used, caprylic alcohol and isomyl alcohol possess the highest surface activity and were most depressant, agreeing in this respect with the greater depression of more surface active amides. Alcohol, ether, chloroform and acetone also possess surface activity though weaker than caprylic alcohol and these agents tended to stimulate and augment autonomic drug action, approaching acetamide (the weakest amide). However, the solvents also affect the surface lipoids and, therefore, the functional changes can not be relegated to surface tension changes alone.

Other surface active agents.

Camphor. Depression of smooth muscles almost invariably resulted from 1 /25 saturation of Tyrode solution with camphor. One-sixth of this concentration depressed rabbit and cat intestine, and also rabbit uterus that was depressed by epinephrine. Camphor stimulated all strips of rabbit uterus and 3 out of 5 strips of dog ureter which were stimulated by epinephrine. Ergotoxine reversed epinephrine and camphor actions on one strip of rabbit uterus, and prevented and decreased the stimulant action of camphor on 4 strips, thus indicating a

sympathetic nerve stimulation by camphor in low concentrations. These results are in line with those of STROSS (33) who observed depression of the intestine and stimulation of the uterus of the guinea pig.

Previous treatment with slightly depressant concentrations of camphor decreased the barium response of 4 out of 5 strips of intestine. The tonus increase caused by barium in 2 instances was sufficient to abolish peristalsis and after camphor, the same concentration of barium did not completely abolish peristalsis. The application of 2 cc. saturated camphor solution during strong barium action caused segmental movements 6 out of 20 times, before relaxation of tonus. From 2 to 3 cc. of camphor solution invariably removed the increase in tonus from barium on intestine and uterus. Minimal effective concentrations of camphor moderately increased the epinephrine stimulation of 3 strips of rabbit uterus, indicating a synergistic action as might be experted from the sympathomimetic tendency of camphor. As a rule, barium action was unchanged.

The addition of 1 cc. of a saturated solution of camphor to 50 cc. of Tyrode solution lowered the surface tension 7.4 dynes. This was considerably more than the lowering produced by the amides, and the effects of camphor on the excised organs were correspondingly greater.

Bile Salts. In general, the action of bile salts on intestine, uterus and ureter was qualitatively the same as, but quantitatively more marked than, that of camphor. The mixture of bile salts in a concentration of 1 : 30,000 depressed the tonus and amplitude of 6 strips of rabbit duodenum and colon and cat duodenum, these results agreeing with those of MAGERL (34) on cat intestine. Out of 10 strips of rabbit uterus, augmented in activity by epiniphrine, the tonus of 9 and amplitude of 4 were increased by concentrations of from 1 : 30,000 to 1 : 10,000 of bile salts. Pregnant cat uterus was variably affected. The majority of 4 strips of rabbit uteri that were depressed by epinephrine, were unaffected by bile salts, while a guinea pig uterus depressed by epinephrine was stimulated. Ergotoxine in 1 : 150,000 concentration prevented the augmentor action of epinephrine on rabbit uterus, but decreased the action of bile salts only 50 per cent. These various responses to bile salts indicate a mixed action on the muscle and sympathetic nerves.

The effect of bile salts on the autonomic drug responses of the intestine was simply that of depression. The autonomic drug response of the uterus was variable. The response to epinephrine was slightly decreased 6 times, markedly increased 3 times, reversed once and unaffected 4 times regardless of the direction of epinephrine action. Barium action on 4 strips was also variable being increased 50 cent only on 2.

The conclusion permissible from these results is that the bile salts exerted qualitatively an action similar to, but not identical with, that of epinephrine, and that it variably affected the responses to the autonomic drugs used. When the alterations were marked they were in harmony with those of camphor, which lowered the surface tension of Tyrode about 1/2 (7.4 dynes) the lowering caused by bile salts (15 dynes).

Saponin. A concentration of 1 : 30,000 of saponin stimulated (tonus and amplitude) 6 strips of rabbit duodenum, the same occurring in nicotinized and atropinized strips. Cat duodenum was unaffected. The action of the same concentration on non-pregnant cat uterus was variable, but 5 strips of rabbit uterus were stimulated, the stimulation being 100 per cent. greater than that of an equal concentration of bile salts. Recovery from the marked contractions occured at the end of from 4 to 10 minutes. Ergotoxine decreased, but did not prevent, the stimulation. Hence, the stimulant action of saponin was muscular.

There was no alteration of epinephrine and barium actions on the rabbit and cat intestine, but both epinephrine and barium actions on

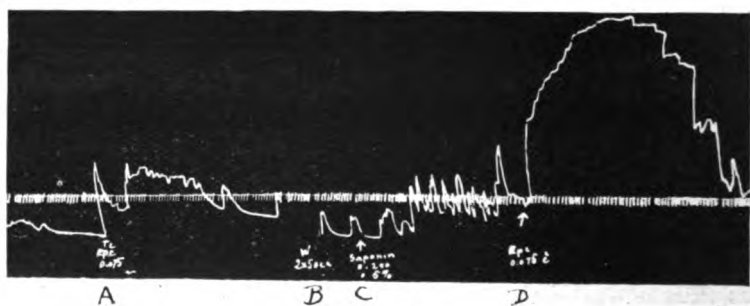



Fig. 8.

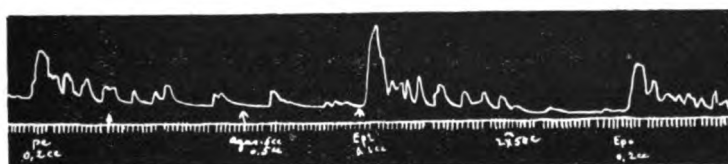
Stimulation and Sensitization of Non-pregnant Rabbit Uterus by Saponin. At « A », Epinephrine (1 : 33,000,000) control ; at « B », washing ; at « C », Saponin (1 : 50,000) causing moderate stimulation, and « D », marked response to Epinephrine. Reduced to 1/8.

rabbit uterus were increased from 50 to 100 per cent, the increase being in the nature of a sensitization. A typical sensitization of the uterus to epinephrine by saponin is illustrated in Figure 8. Pilocarpine action on rabbit duodenum was variably affected. Saponin, in a concentration of 1 : 30,000, lowered the surface tension of Tyrode solution 25 dynes, which was 2.6 greater than the combined lowering (22.4 dynes) of camphor (saturated) and bile salts (1 : 30,000). The fact that camphor, bile salts and saponin are chemically different, but possess in common the power of lowering surface tension, suggests again a relation of surface activity to their similar effects on smooth

muscle in the same sense as was suggested for the lipoid solvents and amides. Saponin possessed the most marked surface activity and also gave the most marked and consistent alterations in epinephrine and barium responses of the uterus. Bile salts possessed a greater surface activity than camphor and quantitatively the muscular responses to bile salts were more marked but the alterations of autonomic drug responses by both agents were of about the same order and more variable with the bile salts. Free generalization is not permissible, but the results with all the surface active agents studied definitely indicate that surface and functional activity are related and that alterations in surface activity cause functional alterations.

Emulsoids.

Marked systemic reactions from the intravenous injection of various colloids have been demonstrated by several investigators. Hence, it was deemed worth while to observe the effects of some of the typical colloids on excised smooth muscles.

Agar. In concentrations up to 0.1 per cent., agar had no demonstrable effects on rabbit intestine and on its response to autonomic drugs. A concentration of 1 : 2,000 caused no immediate change in activity of 3 strips of uterus, but sensitized them to epinephrine from 50 to 100 per cent. Washing removed this effect. Figure 9 shows a

↕ Epi. 0.2 cc Fig. 9.

Increased Response of Non-pregnant Rabbit Uterus to Epinephrine (1 : 25,000,000) Produced by an Ineffective Concentration (1 : 2,000) of Agar. Reduced to 1/4.

typical sensitization to epinephrine. It is improbable that the small amount of calcium in the low concentrations of agar was responsible for the sensitization to epinephrine, since such small quantities of calcium chloride did not cause sensitization.

« *Toxified* » *Agar.* « Toxified » agar was prepared from guinea pig serum according to the method of BORDET (35). The description of the method of preparation will be omitted here. The finished product consisted of guinea pig serum practically freed of agar by centrifugalization, though, of course, the serum had been exposed to the action of agar. For the control, guinea pig serum treated with 0.9 per cent. sodium chloride instead of 0.5 per cent. agar was used. Both

the agarized and control serums caused stimulation of 3 strips of rabbit duodenum and 1 of uterus, with recovery in from 3 to 5 minutes.

The effect on the response of the muscles to autonomic drugs was simple summation. The results suggest that the lack of altering activity was due to the comparative absence of agar in the preparation as compared with the effects of agar alone described above. Yet, the agarized serum of BORDET is among the most potent agents for eliciting anaphylactoid reactions in the intact organism.

Acacia. In 1/4 per cent. concentration, native acacia had no demonstrable affects on 4 uterine strips, but in from 1/2 to 1 per cent. concentrations, it depressed 2 strips of rabbit duodenum, 1 of colon

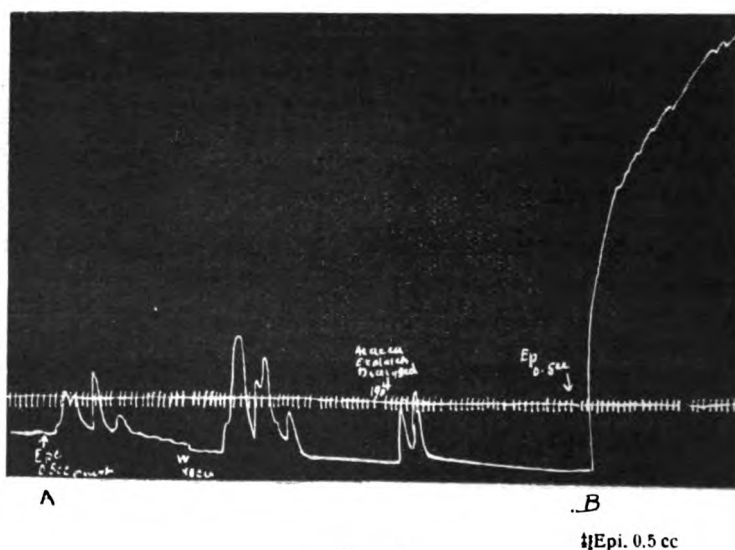



Fig. 10.

Sensitization of Non-pregnant Rabbit Uterus to Epinephrine (1 : 5,000,000) by One per Cent. Acacia (Oxalated, Dialyzed and Calcium-free) at « B » as Compared with the Action of the Same Concentration of Epinephrine before Acacia at « A » on the Same Strip. Reduced to 1/3.

and 3 out of 4 strips of uterus. The depression was due to calcium, since calcium-free acacia prepared by treatment with oxalate, filtration and dialysis was ineffective.

Calcium-free acacia in 1 per cent. concentration caused a slight though definite increase in response of a strip each of rabbit duodenum and colon to pilocarpine and barium, a second strip of duodenum being unaffected. The responses of 5 strips of uterus to both epinephrine and barium were definitely increased by 1/4 and 1 per cent. native acacia, and of 7 other strips to epinephrine by calcium-free acacia, the increases in the latter amounting to from 20 to 500 per cent. Figure 10 illustrates a sensitization of the uterus to epinephrine

produced by calcium-free acacia. Although acacia (calcium-free) had no demonstrable action on the smooth muscles used, its altering (sensitizing) effect on autonomic drug responses is in line with its alteration (augmentation) of function of excised frog ventricle reported by JUNKMANN (36). The results obtained leave no doubt that acacia (native and calcium-free) exerts a definite influence on the functional state of smooth muscle.

Suspensoid colloids.

Colloidal Arsenic. A remarkable alteration in the epinephrine response of uterus resulted from pervious treatment of the organ with colloidal arsenous sulphide. A concentration of 1 : 50,000 of this

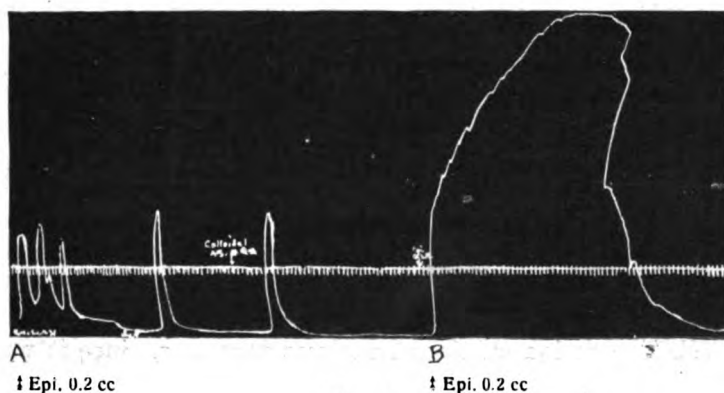



Fig. 11.

Sensitization of Non-pregnant Rabbit Uterus by Colloidal Arsenic (1 : 50,000) to Epinephrine (1 : 20,000,000) at « B » as Compared with the Control Action of the Same Concentration of Epinephrine at « A » before Arsenic. Reduced to 1/9.

agent (determined by evaporation and gravimetric estimation of the residue) had no direct action on cat and rabbit uteri, but it increased the epinephrine depression of a strip of cat uterus 30 per cent. and increased the epinephrine stimulation of 8 out of 11 strips of rabbit uterus from 30 to 300 per cent. (average, about 100 per cent.). Figure 11 illustrates the sensitization of uterus to epinephrine. The increase in barium response was less than 10 per cent. and the effect was removed by washing. The responses of 8 strips of intestine to the autonomic drugs were unchanged.

The action of the colloidal arsenic solution (originally purified by dialysis) was due in part to a dialyzable constituent as indicated by a decreased activity of the solution after dialysing for 6 hours on 6 strips of rabbit uterus. Sensitization to epinephrine did not occur with the dialyzed, but it did occur with the original undialyzed solution. Furthermore the epinephrine and barium responses of 3 out of 4 strips of uterus were moderately increased following the addition of small

quantities of the dialysate, but not of distilled water, as the solvent. The increased epinephrine action following the application of the dialysate further greatly increased on application of the non-dialysed colloidal arsenic. A crystalloid and ionized form of arsenic was probably not the responsible constituent in the dialysate, since sodium arsenite in concentrations of from 1 : 500,000 to 1 : 50,000 did not affect, or decreased, the epinephrine response of 3 out of 4 uterine strips.

Colloidal Iron. This agent was used with the hope of contrasting any results with those of colloidal arsenic. Both are suspensoids, but colloidal iron carries a positive, while colloidal arsenic carries a negative charge. Concentrations of colloidal (dialysed) iron up to 1 : 10,000 had no demonstrable effect on 8 strips of rabbit uterus, one strip of cat uterus and 1 strip of cat udodenum. The epinephrine response of only 1 of the strips of rabbit uterus was increased by colloidal iron, while the responses of a strip of cat duodenum to epinephrine, pilocarpine and barium were unaltered. The negative results with colloidal iron can be explained by the fact that it was precipitated in the alkaline Tyrode solution and, therefore, could not exert any action. The colloidal arsenic was not precipitated.

Collargol. In concentrations of from 1 : 50,000 to 1 : 25,000 collargol increased the amplitude or tonus of 4 strips of rabbit duodenum and colon. The tonus of 3 out of 5 strips of rabbit uterus was increased. The action on the uterus was muscular, since it was not abolished by ergotoxine, which reversed the action of epinephrine.

The responses of 9 strips of duodenum, colon and uterus to the 3 autonomic drugs used were variably affected by collargol, being both increased and decreased, only 1 alteration amounting to more than 15 per cent., and therefore, they were unimportant.

Congo red. The stimulant action of this dye on excised intestine, reported previously by HANZLIK (37), was confirmed by me. Concentrations of from 1 : 500 to 1 : 250 gave more constant results than concentrations of from 1 : 1,000 to 1 : 500. Altogether 23 strips were tried, an increase in amplitude or tonus or both occurring in the majority. The stimulation was gradual and persisted over a period of 15 minutes. Stimulation occurred after nicotine and atropine and was, therefore, muscular.

The response of 2 out of 4 strips of intestine to epinephrine was increased. The response to pilocarpine and to barium was perculiar in that the addition of the drugs during the stimulation of 3 strips of intestine by congo red, the total effect of congo red and the drug was no greater than the effect of the drug alone, as though the stimulant action of the drug had been restrained by the congo red. The muscle had not reached the limit of its contractibility.

Trypan Blue. A concentration of 1 : 25,000 had no effect on uterus and intestine, but increased the epinephrine response of 1 strip of rabbit uterus, the barium and pilocarpine actions on 2 uterine strips and one of colon being unchanged.

Adsorbent and viscous agents.

Fuller's Earth. No direct effect occurred from a suspension of 1 : 20,000 fuller's earth applied to 12 strips of rabbit duodenum, colon and uterus.

The occasional decrease in the responses of these strips to epinephrine, pilocarpine and barium after application of fuller's earth were slight and negligible.

Gelatine. The amplitude of contractions of 1 strip of rabbit duodenum was decreased 30 per cent. on immersion in Tyrode solution containing 2 per cent. gelatine, and the activity of 2 strips of uterus was unchanged.

Epinephrine failed to elicit a response from any of the strips of duodenum and uterus, while the pilocarpine and barium actions were complete, though markedly delayed. The action of gelatine may be accounted for by a retarded diffusion of the drugs, the delay in diffusion of epinephrine allowing its destruction before an effective concentration could reach the nerve endings. The facts that the pilocarpine and barium actions were complete and that fuller's earth was ineffective indicate that viscosity rather than adsorption was responsible for the alteration of autonomic drug action by gelatine.

Precipitants.

Alteration of permeability by precipitation or flocculation of constituents in or on cell surfaces has been regarded as an important condition for elicitation of altered cell reactions. With this in view, the effects of copper sulphate, tannic acid and formaldehyde were observed. These agents are known to cause violent anaphylactoid reactions in intact organisms (1).

Copper Sulphate. A stimulation of smooth muscle resulted invariably from the application of copper sulphate in end concentrations of from 1 : 50,000 to 1 : 30,000. An increase in tonus was the usual result, this having occured with 31 out of 34 strips of intestine. An increase in amplitude of contractions occurred with 15 strips, this effect being more frequent with fatigued and used strips than with fresh strips. The contraction rate was remarkably increased in 4 out of 7 strips each of rabbit colon and uterus and cat duodenum. Nicotine had no effect on the action of copper sulphate, but the metal was ineffective after atropine on 4 of 10 strips of duodenum and

after ergotoxine on 7 out of 14 strips. Accordingly, the parasympathetic and sympathetic nerve endings participated in the stimulation.

Copper sensitized 6 out of 8 strips of intestine to the action of pilocarpine and 8 out of 9 strips of intestine and uterus to the action of barium. The sensitizations of colon to pilocarpine and of uterus to barium are illustrated in Figures 12 and 13, respectively. The sensitiz-

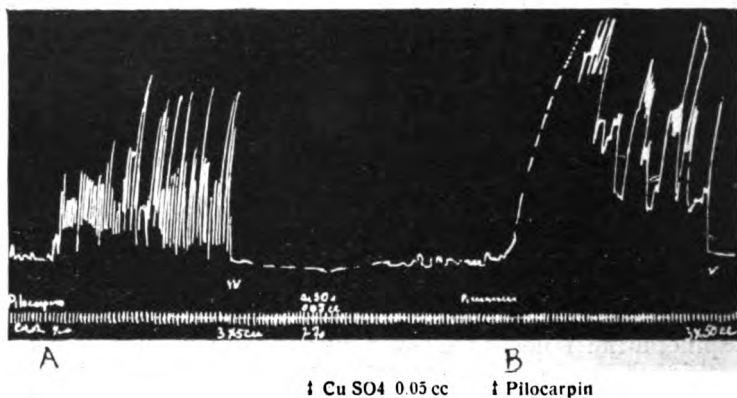



Fig. 12.

Sensitization of a Strip of Rabbit Colon by Copper Sulphate (1 : 50,000) to Pilocarpine (1 : 2,000,000) at « B » as Compared with Same Concentration of Pilocarpine before Copper at « A ». Reduced to 1/5.

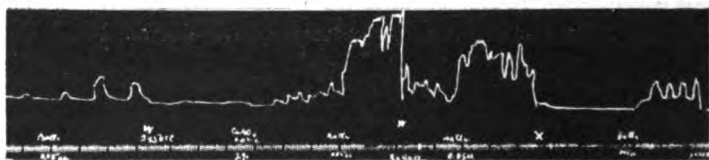



Fig. 13.

Sensitization of Strip of Non-pregnant Rabbit Uterus by Copper Sulphate (1 : 125,000) to Barium (1 : 100,000). The augmentation of the barium persisted after washing three times with 50 cc. of Tyrode. At « X », second washing after copper. Reduced to 1/11.

ations resulted in increases of from 30 to 100 per cent. in the action of the 2 drugs. The inhibitory action of epinephrine was markedly antagonized on 12 out of 14 strips of rabbit and cat intestine and on 4 strips of uterus. The stimulation of the rabbit uterus by epinephrine was reversed to depression in 2 out of 3 strips whose tonus was markedly increased by copper sulphate. The altering effects of copper sulphate persisted after washing.

The antagonistic action of copper sulphate on the epinephrine response of the rabbit intestine did not agree with the reversal of action

reported by HAZAMA (38) for rabbit and rat intestine. HAZAMA used sugar free Tyrode and found the most typical reversals on rat intestine. His experiments were repeated by me on 6 strips of rat intestine. The results were essentially the same as those obtained with rabbit intestine. That is, there was only an antagonism of the epinephrine inhibition, and no reversal.

Tannic Acid. This precipitant in concentrations of 1 : 10,000 and less, caused no change or a slight decrease in the segmental movements of the intestine and uterus.

Concentrations of from 1 : 100,000 to 1 : 10,000 sensitized smooth muscle to the actions of epinephrine, pilocarpine and barium. An in-

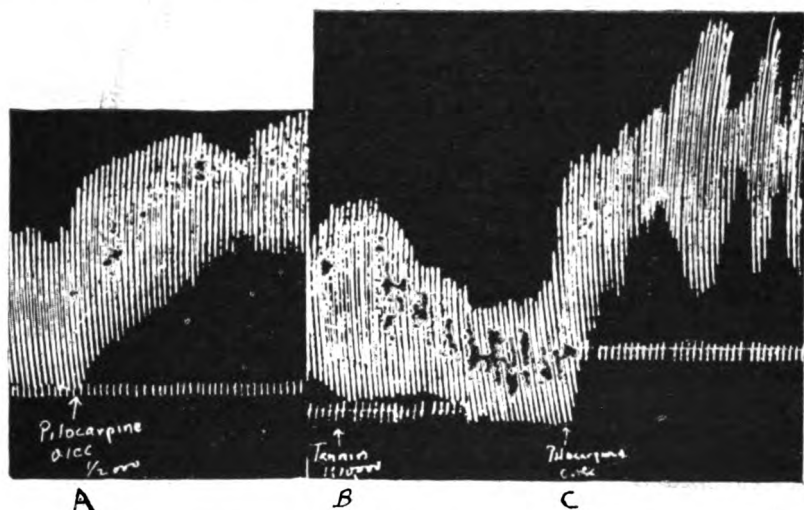



Fig. 14.

Augmentation of Pilocarpine Stimul tion of Strip of Rabbit Duodenum by Tannin (1 : 10,000). « A », Control Pilocarpine Stimulation, « B », Depression by Tannin, and « C », Augmentation of Pilocarpine Action ofter Tannin. Reduced to 1/2.

crease in epinephrine action of from 20 to 100 per cent. occurred with 9 out of 11 strips of rabbit intestine and uterus, while the pilocarpine action on 4 out of 5 strips of rabbit duodenum was increased at least 50 per cent. and was slightly decreased with 1 strip of colon. A typical augmentation of pilocarpine action on the duodenum is illustrated in Figure 14.

Pilocarpine and barium actions on 10 strips of cat intestine were not appreciably influenced or variable, but on 2 out of 4 strips barium action on rabbit uterus was considerably increased after previous application of tannic acid. Figure 15 illustrates marked sensitivity of the uterus to barium and also to epinephrine. Washing did not remove the effects of tannin. In concentrations of 1 : 400,000 and 1 :

1,000,000, respectively, the response to pilocarpine of 2 strips of colon was increased, but barium action was uninfluenced.

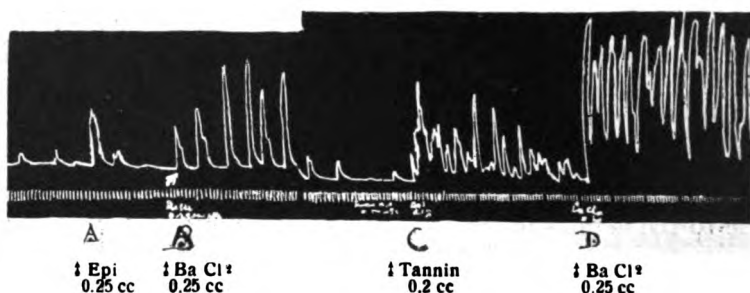



Fig. 15.

Sensitization of Non-pregnant Rabbit Uterus by a Practically Ineffective Concentration (1 : 25,000) of Tannin to Epinephrine (1 : 500,000) at « C » and of Barium (1 : 16,500) at « D » as Compared with the Actions of the Same Concentrations of Epinephrine at « A » and of Barium at « B » on the Same Strip before Tannin. Reduced to 1/7.

The different results with tannin were presumably due to the different permeability effects exerted by the different concentrations. HANDOVSKY and HEUBNER (39) showed that concentrations of 1 : 5,000 increased and of 1 : 100,000 decreased the hemolysis of red blood corpuscles in hypotonic saline, due apparently to different effects on permeability of the cells exerted by the different concentrations.

Formaldehyde. A decrease in the amplitude of contraction of 2 strips each of rabbit duodenum and colon, and of both amplitude and

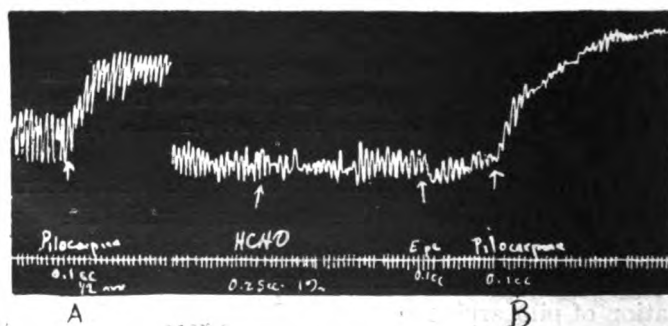



Fig. 16.

Augmentation of Pilocarpine (1 : 1,000,000) Stimulation of Rabbit Duodenum by an Ineffective Concentration of Formaldehyde (1 : 20,000) at « B » as Compared with the Control Action at « A », on the Same Strip. Reduced to 2/5.

tonus of 2 strips of rabbit uterus, was caused by formaldehyde in concentrations of from 1 : 5,000 to 1 : 2,000.

No change in epinephrine and barium responses of duodenum,

colon and uterus occurred, but the action of pilocarpine on both strips of duodenum was increased 50 per cent. The pilocarpine increase is illustrated in Figure 16. The pilocarpine action was still increased after washing.

The sensitization of smooth muscle by copper, tannin and formaldehyde to the autonomic drugs is presumably dependent on the precipitating effects on cell surfaces of these agents. The precipitation or flocculation in or on the cell surface could conceivably alter the permeability of the surface, an increase in permeability being favored by small or moderate flocculation, while a decrease might be expected with marked and extensive precipitation. Further, an increase in permeability within limits tends to increase functional activity and sensitivity of the cells. The results with the low concentrations of the precipitants here reported harmonize with this conception, and therefore, with the theories of LILLIE (40) and HÖBER (41) on the relation of permeability changes to stimulation and depression. It is interesting to note that copper, tannin and formaldehyde altered the responses of autonomic drugs in a more or less selective manner. That is, only tannin and copper altered epinephrine action, and only copper, barium action, and only copper and formaldehyde, pilocarpine action. This may be concerned with the flocculent efficiency and consequent alteration of cell surface permeability by the altering agents.

The conclusion is justified that the precipitating or flocculating agents tried altered the functional response of smooth muscles to certain autonomic drugs acting as chemical stimuli.

Oxidizing and reducing Agents.

Practically no alteration in drug action was caused by mild oxidizing agents.

Thyroid. This was tried because of the belief that the active constituent, thyroxine of the thyroid affects the oxidation-reduction balance (KENDALL 42). No noteworthy action resulted from the addition of 0.5 cc. of 1 per cent. saline extract of powdered thyroid gland to the Tyrode bath. Two strips of colon and 1 of uterus were tried.

Following the application of the thyroid extract, the duration of the epinephrine response of 1 strip of colon was prolonged and the amplitude of the response of 1 strip of uterus was increased 75 cent. thus confirming the report of VAN LEEUWEN and BEUTNER (43). Pilocarpine action on 1 strip of colon was decreased 10 per cent. No change in barium action was demonstrable. These affects may have been due to the protein. Therefore, thyroxine itself was tried.

Thyroxine. Thyroxine from commercial tablets was used, the end concentration of thyroxine being 1 : 1,000,000.

There was no change in activity and autonomic drug response of 3 strips of colon and uterus. From this, it appears that the effects of the thyroid extract were due to constituents other than thyroxine

However, satisfactory results with thyroxine in acute experiments are difficult to obtain and excised strips do not permit chronic experiments.

Iodoxybenzoate. This compound increases the oxidizing capacity of living cells, and its administration is claimed by AMBERG and KNOX (44) to be beneficial in clinical allergies, edema, etc. A tenth normal solution of iodoxybenzoate was prepared by dissolving iodoxybenzoic acid in sodium hydroxide solution. The hydrogen ion concentration was adjusted to pH 8.4. In a concentration of 1 : 6,000 sodium iodoxybenzoate increased both the tonus and amplitude of 3 strips of rabbit duodenum, but had no effect on 2 strips of colon and uterus.

There was no demonstrable alteration of epinephrine action by iodoxybenzoate on any of the strips used, and only slight increases in pilocarpine and barium actions on duodenum, colon and uterus.

Methylene Blue. This agent acts as hydrogen « acceptor », and therefore, when applied to living structures, disturbs theoretically the oxidation-reduction balance in favor of oxidation. In concentrations of from 1 : 500,000 to 1 : 100,000, methylene blue caused a variable, though lasting stimulation (tonus or amplitude) of 18 out of 20 strips of rabbit duodenum and colon. There was no demonstrable effect on 2 strips of uterus. Nicotine and atropine decreased but did not completely antagonize the stimulant action of methylene blue on intestine. Hence, it was muscular. These results were similar to those of LUNDBERG (45).

Higher concentrations of methylene blue, ranging from 1 : 50,000 to 1 : 10,000, caused a sudden stimulation (increase in amplitude) of 4 strips of rabbit duodenum, followed within 2 minutes by a depression in tonus and amplitude, and cessation of activity in 10 minutes, the same occuring in atropinized strips and, therefore, indicating a muscular action.

The actions of epinephrine, barium and pilocarpine on colon and duodenum were practically unchanged by a concentration of 1 : 200,000 methylene blue. A higher concentration (1 : 50,000) of methylene blue diminished the response of 3 strips of rabbit intestine to barium, and therefore, there was considerable depression by this concentration.

Other « Acceptor » Dyes. Phenolsulphonephthalein in a concentration of 1 : 500,000, phenoltetrachlorphthalein in a concentration of 1 : 5,000 and indigocarmine in a concentration of 1 : 10,000 had no demonstrable effects on intestinal smooth muscle and its responses to autonomic drugs.

Miscellaneous Dyes. Rose bengal and gentian violet were used as controls for the « acceptor » dyes. Rose bengal had no action on the duodenum in a 1 : 4,000 concentration. Gentian violet caused depres-

sion of 4 out of 5 strips of rabbit duodenum in concentrations of from 1 : 10,000 to 1 : 5,000.

Epinephrine action on the duodenum was increased by gentian violet without recovery. Pilocarpine and barium actions were abolished during the depression. Washing out of the dye failed to remove its effects. The actions were those of simple summation only.

Sodium nitroprusside. This agent was tried because of its well known reaction with glutathione in living tissues, a constituent that appears to be fundamentally concerned with autoxidation processes in living cells (46). Nitroprusside in the presence of ammonia combines with glutathione giving a purple color; this combination with the sulphydril groups (SH) of glutathione inhibits its active rôle, and thus the active metabolism of the cell.

It was found that sodium nitroprusside, in the absence and presence of ammonia, acted as a powerful depressant of the smooth muscles used. The depressant action of concentrations of 1 : 50,000 and over was unchanged by nicotine and atropine on intestine and by ergotoxine on uterus; hence, it was muscular. The depression was temporary, since complete recovery occurred at the end of from 3 to 10 minutes.

The autonomic drugs were entirely ineffective during the nitroprusside depression of 7 strips of colon, duodenum and uterus. After recovery, the drug action was altered on 4 strips of duodenum and uterus.

The depressant action of nitroprusside agreed with the expected action on autoxidation processes in the muscle, and also as to abolition of drug responses, but it was somewhat surprising that these effects were only temporary. In the intact organism nitroprusside is slowly converted to cyanide with its usual effects, but the immediate effects on excised organs differed from those of cyanide, to be described later on, in that stimulation was absent. From this it may be assumed that the action of nitroprusside was not due to liberated cyanide.

Thiosinamine. Three strips of rabbit duodenum and their drug responses were unaffected by this organic sulphur compound in a concentration of 1 : 25,000.

Thiosulphate. Sodium thiosulphate in 1 : 5,000 concentration had no direct action on 2 strips each of rabbit duodenum and uterus and on 1 strip of colon.

There was no alteration of the pilocarpine and barium responses of the 2 strips of duodenum and of the barium response of the uterus. The epinephrine action was variable. The thiosinamine and thiosulphate, which have been advocated as beneficial agents in the treatment of reactions to arsphenamine, etc., were disappointing, since they were practically inert for excised smooth muscle. Their antitoxic action in the intact organism may rest on a different basis.

Asphyxiants.

Carbon Dioxide. Carbon dioxide was passed into the bath in the presence of a stream of air. A temporary, marked stimulation of 3 strips of rabbit duodenum occurred. Following the stimulation, the tonus fell sharply, and the contractions became slowed and almost abolished as the pH fell to 6.4 (accidity). Recovery was complete on washing.

The response of intestine to epinephrine was abolished, while the actions of pilocarpine and barium were reduced to about 10 per cent. as compared with the control. The results obtained with CO_2 confirm those of FRASER (47) who used FLEISCH's solution, and found that depression occurred at a higher pH with CO2 than with other acids.

Nitrous Oxide. Bubbling nitrous oxide through the bath during aeration caused a moderate stimulation (both tonus and amplitude) for from 1 to 2 minutes followed by depression of 8 strips of rabbit duodenum, 2 strips of colon and 4 of uterus. The stimulant action was much less marked on fresh strips than on those which had been previously treated with drugs and subsequently washed. Nicotine and atropine did not alter the typical action of nitrous oxide on the 1 strip tried. Hence, it appeared to be muscular. Spontaneous recovery occurred slowly after withdrawal of the gas. TESCHENDORF (48) was unable to demonstrate any action of nitrous oxide on the rabbit intestine.

During the stimulant action of nitrous oxide, the responses of 1 strip each of duodenum and colon to epinephrine, pilocarpine and barium were altered in an additive manner only. During the depression, epinephrine action was abolished or decreased on 2 out of 3 strips of uterus and on 2 strips of duodenum. Pilocarpine action on 3 strips of intestine, and barium action on 3 out of 5 strips of intestine and uterus, were also decreased or abolished.

Asphyxia (Oxygen Withdrawal). Asphyxia was produced by withdrawal of air (oxygen) from the Tyrode bath. Within 30 seconds there was an increase in tonus or amplitude of contractions of all strips of rabbit and rat duodenum. The period of stimulation lasted from 75 to 300 seconds, and was followed by a fall in tonus, with diminution in contractions. Complete cessation of movements occurred in 3 out of 8 strips. The preliminary stimulation of 2 strips of colon and of 3 of uterus was slight, and the depression was much less marked than in the case of the duodenal strips. Nicotine decreased the degree of stimulation of 3 strips each of rabbit and rat duodenum, and atropine decreased the stimulation still more, and entirely abolished it in 1 duodenal strip each from the rabbit and rat. Recovery during re-aeration was gradual and complete.

The response of 2 strips of duodenum to epinephrine was decreased

during the period of asphyxial stimulation, while the pilocarpine and barium actions were increased. During the asphyxial depression all drug responses were abolished. This was determined on 3 strips of duodenum, one of colon and 3 of uterus. These are results different from those of GROSS AND CLARK (49) who reported that during asphyxial depression the contractions of the intestine were only slightly diminished, and that the muscle responded to potassium and to high concentrations of barium but not to pilocarpine.

All attempts to resuscitate asphyxiated smooth muscle with the dyes described above, and used as acceptors of reducing constituents accumulated during asphyxia, failed. Sodium iodoxybenzoate (to increase oxidation in the cells) caused a slight though definite increase in the amplitude of contractions of 2 out of 3 strips of duodenum.

The results obtained indicate that asphyxia causes a temporary increase in the activity of smooth muscle through stimulation of both nervous and muscular structures. The subsequent decrease in activity occurs from depression of these same structures, with the result that the muscle does not respond to chemical stimuli (autonomic drugs), as might be expected.

Cyanide. Effective concentrations of sodium cyanide, ranging from 1 : 5,000,000 to 1 : 500,000 on 6 out of 7 strips of rabbit duodenum and 3 strips of rat intestine simulated the effects of asphyxia, causing initial stimulation followed by depression. One strip of colon was unaffected by 1 : 5,000,000 sodium cyanide, while 1 strip of uterus was stimulated without subsequent depression. Nicotine decreased the cyanide stimulation of 3 strips each of rabbit and rat intestine, while atropine further decreased the action on 2 strips of duodenum from each species and abolished it on 1 strip each. These effects were identical with those of asphyxia on the same strips. Recovery occurred on washing out the cyanide. Concentrations of cyanide less than 1 : 5,000,000, when effective, caused only stimulation, with recovery in from 3 to 5 minutes. The results obtained agreed closely with those reported by HAZAMA (50) who studied the action of hydrocyanic acid on rabbit and rat intestine.

The action of epinephrine was decreased and of pilocarpine and barium increased during cyanide stimulation of the rabbit duodenum. There was no change in autonomic drug response of the uterus. No studies of drug response during cyanide depression were made.

It is concluded that all the actions of cynanide are similar to, and can be explained on the basis of, asphyxia.

Sulphocyanate. Since cyanide is oxidized to sulphocyanate in the organism, it appeared possible that this compound might be responsible for the stimulation by cyanide. However, it was found to be ineffective in concentrations of less than 1 : 2,500. That is, low con-

centrations such as would occur from the low concentrations of cyanide were ineffective. Increase in tonus resulted invariably from concentrations of 1 : 2,000 and higher of sodium sulphocyanate on 6 strips of rabbit duodenum and 5 strips of uterus. The action was muscular, since, it was not prevented by nicotine and atropine on the intestine and by ergotoxine on the uterus.

The alterations in autonomic drug response, as determined on 2 strips each of duodenum and uterus, were additive.

Therefore, the action of sulphocynate in relatively high concentrations was simply that of a muscular stimulant. The stimulant action of cyanide in low concentrations cannot be explained as due to the sulphocyanate formed as an oxidation product.

Amino-Acids and Peptone.

ABDERHALDEN and GELLHORN (51) reported that amino-acids increased the response of guinea pig intestine to epinephrine. Some of the animo-acids used by them were applied to rabbit intestine and uterus.

Glycocoll. Without itself affecting the activity of 3 strips each of duodenum and uterus, glycocoll in 1 : 25,000 concentration caused increases up to 20 per cent. in epinephrine action on these organs.

Alanine. Epinephrine action on 2 strips of rabbit duodenum was increased only 10 per cent. by alanine in 1 : 25,000 and 1 : 50,000 concentrations, respectively.

Cystine. Cystine was dissolved in hydrochloric acid, and the excess of acid partly neutralized by sodium hydroxide. In order to keep the cystine in solution, it was necessary to keep the solution quite acid. A concentration of 1 : 25,000 caused no increase of epinephrine action on 2 strips of duodenum, but there was an appreciable increase in the epinephrine response of 2 out of 4 strips of uterus.

Tyrosine. Tyrosine in 1 : 15,000 concentration was without effect on the epinephrine responses of 2 strips each of duodenum and uterus.

Peptone. In a concentration of 1 : 10,000, peptone increased the tonus of 5 out of 6 segments of rabbit intestine, 2 strips of uterus being unchanged. A concentration of 1 : 500 caused stimulation of the 3 strips of cat duodenum and uterus.

The lower concentrations of peptone caused a slight increase in epinephrine action on a strip each of rabbit intestine and uterus, but had no effect on autonomic drug responses of the remaining 6 strips. The higher concentrations on the cat tissues decreased the depressant action of epinephrine, the action being only a summation.

It is concluded that the amino acids caused no, or only a small

and doubtful, alteration of epinephrine action on rabbit intestine and uterus, the organs of the rabbit apparently behaving differently from the intestine of the guinea pig.

Local Anesthetics.

Cocaine. Six strips of rabbit intestine responded to from 1 : 100,000 to 1 : 50,000 concentrations of cocaine hydrochloride with an increase in tonus while 4 strips were unaffected or depressed. Concentrations of 1 : 25,000 or greater invariably decreased the amplitude of 7 strips of rabbit and cat duodenum. This confirmed the report of NAGAMACHI (52). After atropine, cocaine caused stimulation of 2 out of 3 strips of rabbit duodenum. Five strips of rabbit uterus were stimulated by cocaine in concentrations of from 1 : 100,000 to 1 : 10,000. Ergotoxine did not prevent the uterine stimulation and therefore it was muscular.

The inhibitory action of epinephrine on the majority of 8 strips of duodenum and uterus was decreased when the organs were stimulated, and practically unchanged or slightly increased when they were unaffected, by cocaine. Epinephrine stimulation of 2 strips of uterus was increased during cocaine stimulation. Pilocarpine and barium actions on the majority of 7 strips of intestine were antagonized by 1 : 25,000 to 1 : 10,000 cocaine. The increase in epinephrine response in the few intestinal and uterine strips caused by cocaine was much less in degree than would be expected from the marked systemic sensitization of sympathetic nerves by cocaine as indicated by the marked increase in blood pressure from epinephrine shownby FRÖHLICH and LOEWI (53). The results obtained indicate that cocaine has a mixed action ; that is, partly nervous and partly muscular, and in which concentration plays an important part. Low concentrations tend to stimulate while high concentrations tend to depress though not invariably.

Procaine. The tonus or amplitude in 6 out of strips of rabbit was decreased by concentrations of from 1 : 50,000 to 1 : 10,000 of procaine hydrochloride. The amplitude of contractions of strips of colon was variable. Seven out of 9 strips of uterus were stimulated. Atropine reversed the action of procaine from depression to stimulation on 3 out of 4 strips of rabbit duodenum. Ergotoxine did not prevent the stimulant action of procaine on the uterus, therfore the action was muscular.

Procaine caused immediate relaxation of pilocarpine contractions of 7 strips of duodenum and colon and of the barium contractions of 2 strips of duodenum. However, procaine failed to antagonize the action of barium on 3 atropinized strips. The depression seemed to be more

pronounced during a high state of muscular tonus. Immersion in procaine of a concentration of 1 : 10,000 prior to the application of pilocarpine invariably decreased the pilocarpine action but did not prevent it. Barium did not stimulate 2 strips of rabbit uterus previously immersed in procaine. Epinephrine stimulation was reversed to depression during the procaine stimulation of 4 out of 6 strips of rabbit uterus and was unchanged on 1 strip which procaine failed to stimulate. The reversal of epinephrine action is illustrated in figure 17. Epine-

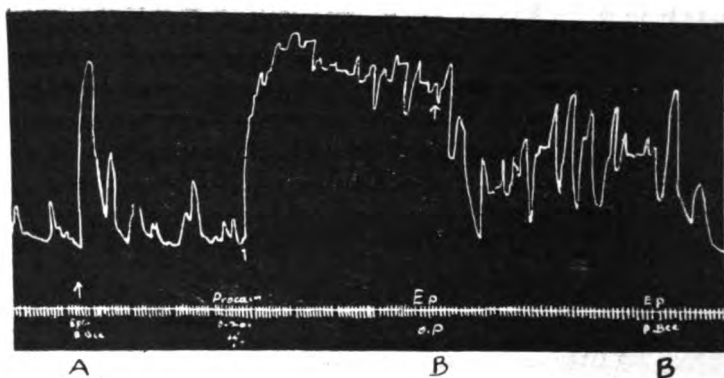



Fig. 17.

Reversal of Epinephrine (1 : 17,000,000) Stimulation at « A » to Depression at « B » of a Strip of Rabbit Uterus by Procaine. Reduced to 1/5.

phrine response was also reversed by the combined action of procaine and barium on 2 of these strips, but not by barium alone. After relaxation of the strips, epinephrine again caused stimulation. The results obtained indicate that procaine possesses a mixed action, agreeing in this respect with cocaine. Taking untreated intestinal strips alone, and from the facts that procaine antagonized the actions of pilocarpine, this local anesthetic would seem to act by parasympathetic depression, and this agrees with the suggestion of SCHNELLER (54) who used physostigmine. Paralysis of the parasympathetic was excluded because pilocarpine stimulation was still obtained after removal of the procaine by washing. Taking all the organs together, the results (stimulations and reversals) indicate that procaine also possesses a muscular action independently of nerve connections, causing, as a rule, stimulation.

Irritants.

In this group are agents known to cause idiosyncrasies or allergic responses in certain individuals.

Iodine. Concentrations of 1 : 300,000 and 1 : 60,000 of iodine

had practically no action on 5 strips of duodenum, colon and uterus and the autonomic drug responses were unaltered.

Turpentine. The addition of 1 and 2 cc. quantities of a saturated solution of turpentine in 0,9 per cent. sodium chloride to 5 strips of uterus and duodenum caused only a slight depression or no action and only slight decreases of epinephrine and barium responses.

Paraphenylenediamine. This agent has been shown by TAINTER and HANZLIK (55) to increase markedly the permeability of blood vessels during edema. A concentration of 1 : 10,000 (less than 1 : 20,000 being ineffective) caused an initial increase in tonus followed by depression of 3 strips of rabbit uterus and duodenum, thus confirming the report of HANZLIK (56), who determined the action to be muscular.

The epinephrine response of 4 strips of uterus was increased from 20 to 100 per cent. while the barium responses of 2 strips were increased 20 per cent. and 75 per cent. by the paraphenylenediamine. A sensitization to epinephrine is illustrated in Figure 18. There were no altera-

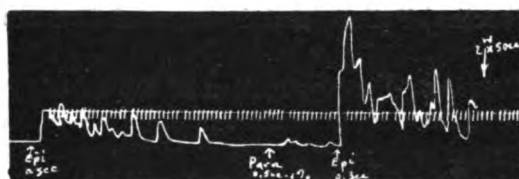



Fig. 18.

Sensitization of a Strip of Non-pregnant Rabbit Uterus to Epinephrine (1 : 8,000,000) by an Ineffective Concentration of Paraphenylenediamine (Para, 1 : 20,000). Reduced to 2/7.

tions of the autonomic drug responses of 3 strips of duodenum. Apparently a relationship between functional state and the assumed alteration of permeability by paraphenylenediamine did not exist in the case of the intenstine. However, it must be said that it was the uterine muscle that gave more consistent alterations in autonomic drug response than the intestinal in this study.

Vascular and cardiac agents.

Digitalis. Five hundredths of a cc. of a 5 per cent. alcohol-free tincture of digitalis added to 50 cc. Tyrode caused a small increase in tonus of 5 out of 6 strips of duodenum and uterus. This concentration caused a definite increase in the response of 2 strips of uterus to epinephrine (stimulation), but the epinephrine and pilocarpine responses of 4 strips of duodenum and uterus remained unchanged.

Strophanthin. A concentration of 1:1,000,000 strophanthin increased the amplitude of contractions of only uterus without alteration of epinephrine responses of colon and uterus.

Histamine. Minimal effective concentrations of histamine (1 : 10,000,000 to 1 : 1,000,000) caused no alteration in the response of 2 strips of colon and 1 strip of uterus to epinephrine, pilocarpine and barium.

Nitrite. The minimal depressant concentration (1 : 20,000) of sodium nitrite caused no alteration in the responses of 4 strips of rabbit intestine and 2 of uterus to the autonomic drugs.

Barium. Barium had an additive effect only on the pilocarpine response of 4 strips of duodenum. The changes produced by vascular and cardiac agents were negligible and unimportant.

Vaccine, Pollen, and Sputum of Asthma.

Typhoid Vaccine. The application of 0.5 cc. of typhoid vaccine to 2 strips of rabbit duodenum resulted in an increase in tonus, followed by a slight depression. Since the effects of the typhoid vaccine were reproduced exactly by equal quantities of 0.4 per cent. cresol, which is used as a preservative in the product, the effects of the vaccine were due chiefly to the cresol.

The response of the strips to epinephrine, pilocarpine and barium was practically unchanged.

Pollen. From 0.1 to 0.5 cc. of a 1 per cent. solution of ragweed Allergen (Squibb) had no effect on the spontaneous activity and autonomic drug responses of strips of rabbit duodenum and colon.

Sputum. Samples of sputum were obtained from a patient with bronchial asthma and from a patient with pulmonary edema due to cardiac decompensation. Sputum from the asthmatic patient was collected on 2 successive days, care being taken to separate sputum obtained during an attack from that when the patient was free from symptoms. The samples of sputum from the asthmatic patient on the first day and the sputum of the cardiac patient were contaminated with blood. Each sample of sputum was extracted with an equal volume of 95 per cent. alcohol, the precipitate being removed by filtration and suspended in a small quantity of Tyrode solution. The filtrate was evaporated on a water bath and the residue dissolved in Tyrode.

Both the alcohol extract and the suspension of the precipitate of

the blood-tinged sputum from the cardiac patient depressed the amplitude of contractions of the cat duodenum.

The precipitate of the blood-tinged sputum from the asthmatic patient during attack and remission caused an increase in tonus of cat duodenum and uterus. Atropine abolished the effect on the intestine, but it was unaffected by ergotoxine on the uterus. The precipitate from the blood-free sputum had no action on the intestine of the rabbit. The alcohol extract from all 4 samples of asthmatic sputum caused a decrease in amplitude of contractions of the cat duodenum.

Pilocarpine action on the intestine was slightly increased by the precipitate of the blood-tinged sputum from the asthmatic patient during the attacks.

The results obtained indicate that the stimulation caused by the blood-tinged sputum was due to the presence of serum or blood, although the absence of stimulation by the blood-tinged sputum of the cardiac patient is against this. Nevertheless, the presence of serum effects in such biologic fluids must always be considered. The results obtained do not confirm those of HARKAVY (57) who reported stimulation of cat intestine by the alcohol precipitate of sputum obtained during an asthmatic attack, but not during the quiescent period.

Miscellaneous Agents causing anaphylactoid Phenomena and clinical Allergies.

Arsphenamine. Concentrations of 1 : 12,000 to 1 : 5,000 (approximately 1/2 to full concentrations occuring in the blood of a 60 kilo man after injection of 0.9 Gm. of the drug) of di-sodium-arsphenamine on 22 strips of rabbit and cat intestine gave negative effects or only some depression. The tonus of 2 strips of rabbit uterus was slowly increased, followed by recovery. Since all the effects were reproduced by a Tyrode solution of the same degree of alkalinity as the arsphenamine solution, they were due chiefly to the alkalinity.

The response of the muscle strips to autonomic drugs was not altered beyond the effects of ordinary summation.

Sodium Arsenite. Concentrations of sodium arsenite of from 1 : 50,000 to 1 : 20,000 were used to determine whether any effects of arsphenamine might not be concerned with inorganic arsenic. This would be particularly important after administration of arsphenamine. The result was uniformly a depression of 5 strips of intestine and uterus; and therefore, the action was different from that of arsphenamine.

Sodium arsenite did not alter, or only slightly decreased, the responses of the strips to autonomic drugs.

Antipyrine. The tonus of 4 strips of rabbit uterus was markedly

increased by from 1 : 50,000 to 1 : 10,000 concentrations of antipyrine. Ergotoxine prevented the action. The tonus of 1 strip of cat uterus, responding to epinephrine with depression, and the tonus or amplitude of 4 out of 7 strips of rabbit intestine, were decreased. Accordingly, antipyrine exerted a sympathomimetic action on the majority of strips. This is interesting in view of the alleged abortifacient and menorrhagic effects of this drug and other coal tar derivatives.

Antipyrine exerted only an additive effect on the actions of autonomic drugs on these same smooth muscle strips.

Orris Root. Orris root is alleged to be the cause of allergic reactions from cosmetic preparations containing it, and in some individuals handling it.

One cc. of a 1 per cent. infusion of the powdered orris root added to 50 cc. of Tyrode solution only slightly depressed 5 out of 10 strips of rabbit and cat intestine and uterus. The infusion contained tannin as indicated by a positive iron test.

The epinephrine response of 7 out of 9 intestinal strips was increased from 20 to 50 per cent. by the previous application of orris root. Pilocarpine and barium responses were unchanged. In part, the effects of orris root resembled those of tannin, described in the fore part of the paper. However, the facts that only the epinephrine response was increased and not the pilocarpine and barium responses, all of these being augmented by tannin, speak against a purely tannin action. Owing to the complexity of the crude drug, further trials were not made.

Sallicylic Acid. No effects resulted from concentrations of from 1 : 50,000 to 1 : 25,000 of salicylic acid, applied to 9 strips of rabbit duodenum and uterus.

The epinephrine response of these organs was unchanged by previous treatment with salicylic acid. The addition of salicylic acid either during or preceding the actions of pilocarpine and barium resulted in a 50 per cent. increase in the responses of 7 out of 9 strips of intestine and uterus to these drugs. A sensitization of colon to pilocarpine is illustrated in Figure 19. As a rule, salicylic acid forms poorly soluble compounds with the alkaloids ; the augmentation of autonomic drug action therefore, was due to some effect of the salicylic acid on the muscle cells. Some support to this notion is obtained from the fact that salicylic acid has been shown to alter (increase) the permeability of living, excised, intestinal loops reported by HANZLIK (58) and of colloids reported by OSWALD (59). That is, the increased response, or susceptibility to pilocarpine and barium may possibly be explained on a basis of altered (increased) permeability of the muscle cells. The negative effects of the acid itself are not strictly consistent with this idea,

though the increased permeability to the autonomic drugs may nevertheless hold and explain their easier and more efficient action on the muscles.

Sodium Salicylate. Opposed to the action of salicylic acid were

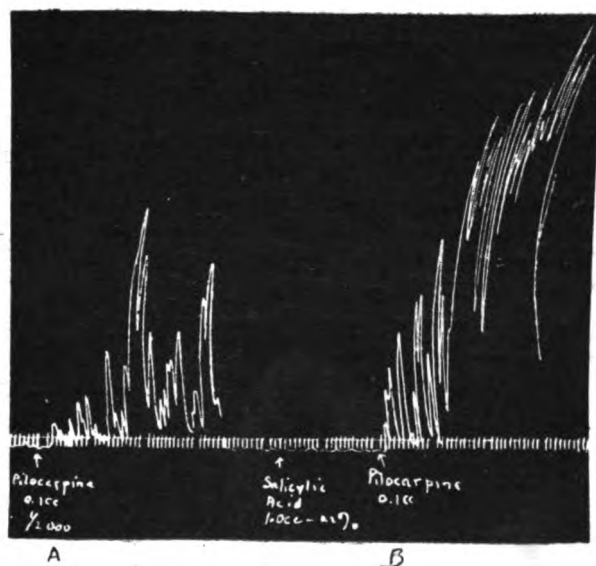



Fig. 19.

Sensitization of Rabbit Colon by Salicylic Acid (1 : 25,000) to Pilocarpine (1 : 1,000,000) at « B » as Compared with the Pilocarpine Action on the Same Strip before Salicylic Acid at « A ». Reduced to 1/3.

the negative results from 1 : 30,000 to 1 : 10,000 concentrations of sodium salicylate on 8 strips of duodenum, colon and uterus. Since salicylic acid is lipoid soluble, and sodium salicylate water soluble, it is possible that the salicylic acid penetrated the cell surface before it could be neutralized by the alkalinity of the Tyrode, while the water soluble salicylate penetrated more slowly and exerted no action in the short interval involved in the experiments. It is also possible that the augmentation of action by salicylic acid is a matter of change in lipoid constituents of the cell surfaces as with certain lipoid agents and solvents described earlier in this paper. The alteration in permeability suggested above could easily be associated with the lipoid changes. Sodium salicylate, being water soluble, would not affect the lipoids.

Quinine. The results on 5 strips of rabbit colon and uterus were

stimulation by a concentration of 1 : 100,000 of quinine sulphate, and depression by a concentration of 1 : 10,000.

No alterations in autonomic drug responses of the strips occurred from concentrations of 1 : 100,000, but a 1 : 10,000 concentration of quinine decreased the actions of barium and pilocarpine.

Bromide. Bromide, in 1 : 2,000 concentration, had practically no effect on the activity and autonomic drug responses of 3 strips of intestine and uterus.

Iodide. Concentrations of 1 : 500,000 and 1 : 1,000 of sodium iodide produced no change in the activity and autonomic drug responses of 2 strips of intestine and 3 of uterus.

Iodoform. A liberal excess of iodoform (saturated solution) in the Tyrode solution had no influence on the activity and autonomic drug responses of 2 strips of rabbit uterus.

DISCUSSION.

Out of the total number of 94 agents used, 45 were found to exert some altering influence on the responses of smooth muscle of excised intestine and uterus to the autonomic drugs used. For convenience a summary of these has been made in Table 2. A point of interest is the more frequent alteration in drug response of the uterus than of the intestine. This may be accounted for in part by the more perfect nervous control and greater complexity of the intestine, thus making it less susceptible to alterations in functions and by stimuli. The uterus is a classical illustration of an organ which undergoes spontaneous and periodic changes in functional state, as during oestrus, menstruation and pregnancy. It also varies with the species, and it is well known that the uterus of different species responds differently to epinephrine; and also that the epinephrine response of certain virgin and non-pregnant uteri is diametrically opposite to that of the same uteri in a pregnant state (altered functional state).

A few of the altering agents exhibited some degree of specificity, the typical effect occuring on the intestine (lipoid solvents) or on the uterus (colloidal arsenic, paraphenylenediamine) and the altering action in some instances being limited to a single autonomic drug. This apparent specificity suggests the desirability of extending the study to other smooth muscles, especially blood vessels and bronchi. The response to depressants (except epinephrine inhibition) was not tried and it might be different from the response to autonomic stimulants. Nevertheless, certain deductions may be made from the results

TABLE 2.

Summary of Altered Responses of Smooth Muscle to Autonomic Drugs.

Altering Agent (*)	*End concentration in Tyrode Bath* (**)	*Muscle* D = duodenum C = colon U = uterus	*Autonomic Drug* E = epinephrine P = pilocarpine B = barium	*Alteration of Autonomic Drug Action* (+ = increase, — = decrease, r = reversal, vt = varies with tissue vd = varies with drug)
acids	pH 7.6 to 7.8	D, U	E, P, B	+
increase of calcium (***)	1 : 1,700	D, C, U	E, P, B	vd, vt
absence of calcium	0	D, C, U	E, P, B	—
oxalate	1 : 1,000	D, C, U	E, P, B	—
citrate	1 : 1,000	D, C, U	E, P, B	—
increase of potassium	1 : 1,700	D, C, U	E, P, B	vd, vt
absence of potassium	0	D, C, U	E, P, B	—, r (B)
fluoride	1 : 2,000	D, U	E,	—
cholesterol	saturated	D, C, U	E,	—, r (E)
kephalin	1 : 50,000	D, C,	P	+
soap	1 : 15,000	D, C, U	E,	+
ethyl alcohol	1 : 200	D, ‡	P,	+
ether	1 : 200	D, ‡	P,	+ (slight)
acetone	1 : 200	D,	P,	+

(*) Grouped according to common properties.
(**) In most instances slight, or not effective on the organ.
(***) The action of calcium on the duodenum was reversed by apocodeine.
‡ One strip.

TABLE 2 (cont'd).

Altering Agent	*End concentration in Tyrode Bath*	*Muscle*	*Autonomic Drug*	*Alteration of Autonomic Drug Action*
chloroform	1 : 20,000	D,	P,	+
isoamyl alcoh.	1/200 saturat.	D, U,	E,	+
caprylic alcohol	1/50 saturation	D, U,	E, B,	+ (slight)
acetamide	1 : 200 to 1 : 50	D, C, U	E, P, B	—, vd (small)
propionamide	1 : 2,000	D, C, U	P, B	— (occasional)
valeramide	1 : 4,000	D, C, U	E, P, B	—
salicylamide	1/50 saturation	D, C, U	E, P, B	—
camphor	1/25 saturation	D, C, U	B	—
camphor	1/250 saturat.	U	E.	+
bile salts	1 : 30,000	U	E, B	+ (variable)
bile salts	1 : 30,000	D, C	P, B	—
saponin	1 : 30,000	U	E, B	+
acacia	1 : 400	D, C, U	E, P, B	+
agar	1 : 2,000	U	E	+
colloidal arsenic	1 : 50,000	U	E	+
gelatine	1 : 50	D, U	E	—
formaldehyde	1 : 20,000	D	P	+
copper	1 : 50,000	D, C, U	E, P, B	—, +, vd
tannic acid	1 : 10,000 to 1 : 100,000	U	E, B	+
methylene blue	1 : 50,000	D	B	—
thyroid	1 : 1,000 extract	U	E	+

TABLE 2 (cont'd).

Altering Agent	*End concentration in Tyrode Bath*	*Muscle*	*Autonomic Drug*	*Alteration of Autonomic Drug Action*
nitroprusside	1 : 25,000	D, C, U	E, P, B	—
carbon dioxide	pH 6.4	D	E, P, B	—
nitrous oxide	saturation	D, C	E, P, B	—
asphyxia		D, C, U	E, P, B	—
sodium cyanide	1 : 500,000 to 1 : 5,000,000	D	E, P, B	E, P, B —
glycocoll	1 : 25,000	D, U	E	+
cocaine	1 : 100,000	D, U	E	+
procaine	1 : 40,000	D, C, U	E, P, B	r, —, vd, vt
turpentine	1/25 saturation	D, U	E, B	—(slight)
paraphenylenediamine	1 : 10,000	U	E, B	+
orris root	1 : 10,000 infusion	D	E	+
salicylic acid	1 : 25,000	D, C, U	P, B	+

on the uterine and intestinal muscles of this study. They are consistent with certain facts and theories, and are of considerable importance, because it is believed they help to give a more fundamental conception of the general group of allergic phenomena.

Altered responses were uniformly obtained with surface active agents, that is, with those affecting the medium or the cells through changes in surface tension and in lipoids and by precipitation or flocculation, adsorption, lessened diffusion, etc. Since the agents were chemically different, and chemical reactions gave variable or insignificant alterations, it appears that the effects were chiefly physical, presumably in or on the cell surfaces. The lipoid solvents would exert their action on the lipoids of the cell surface, and the precipitants would cause flocculation, and so on. In this manner changes in the functional state

may be conceived to occur through alterations in cell surface permeability. This was reflected in the changed response to chemical stimuli (autonomic drugs). Changed responses (increased) were in several instances due to agents which had no demonstrable direct action on the muscle. Or, in other words, ineffective concentrations of the altering agents caused sensitization of the muscle and nerve structures for autonomic poisons. This occurred with such relatively inert agents as agar and acacia, with more active agents such as copper, tannin and formaldehyde (all precipitants) with changes in hydrion concentration from pH 8.3 to 7.7, with bile salts, lipoids, lipoid solvents, saponin, camphor in some instances and with paraphenylenediamine, salicylic acid, etc., all altering agents and being obviously different physically and chemically. The physiological evidence, i.e., muscular contraction, indicated unquestionably that some change occurred in the muscle cells although the results did not disclose the exact chemical or physical nature of the cell condition which gave rise to the change in functional response. Unfortunately, methods do not exist for determining the exact chemical or physical changes in living cells, without causing injury, therefore, one must rely on indirect evidence. Nevertheless, it is a striking fact that the most efficient altering agents possessed one property in common, namely, some form of surface activity, and this relation between surface activity and physiological response is consistent with what is known of certain responses of other tissues. It is also consistent with and gives support to the theories of HÖBER (41), BURRIDGE (9) and others, but has not been demonstrated extensively before for the complex smooth muscle of the higher forms.

Pharmacologically, the actions of the autonomic drugs used, namely, epinephrine, pilocarpine and barium, have been tried under a variety of conditions, the latter, when causing a variation in their actions, indicating something of the condition underlying the natural variability of response frequently observed. Hence, the knowledge of these autonomic drugs has been extended, let alone the large number of altering agents that was studied and whose mechanisms of action on excised smooth muscle was determined. Certain of these agents may ultimately be found to cause altered, perhaps even improved, responses of desirable autonomic drugs on systemic administration. If so, it is possible that combinations with certain drugs may be found which will improve their therapeutic use.

As for the effects of agents injected intravenously, it is obvious that the functional state of cells and their responses to stimuli (drugs, etc.) may be changed by agents producing scarcely detectable physical and chemical changes in their environment (blood, lymph, etc.). From such changes, symptomatic disturbance may be expected, ranging from the scarcely demonstrable, through marked to death. Hence, the

fundamental basis of reactions in intravenous injections from the results here reported is suggested. Many agents used intravenously were used in the experiments on the excised muscles and found to influence their functions.

Bearing in mind that relatively inert and inactive substances, in the ordinary sense, (acacia, agar, cholesterol, etc.) may cause sufficient disturbances in the environment to change the functional state and response of cells, and that effects may occur also from ineffective concentrations of otherwise active agents, another possibility is suggested from the results of this study. It should not be surprising to find blood of allergic individuals to be relatively innocent, and like that of normal individuals. It need not contain toxins, or peculiar substances, specific or non-specific, such as anaphylatoxin, sensibilisin, etc., all of which are hypothetical substances suggested by various investigators to explain the allergic states. In view of our lack of knowledge of the peculiar properties of blood, lymph, etc., in allergic states, the results of the present study suggest, to say the least, that some change in its physical properties or in its ordinary constituents, and the consequent disturbance in chemical and physical mechanisms, may determine the allergic state or predisposition to it.

CONCLUSIONS.

1. Out of a total of 94 agents used to produce physical and chemical changes in the environment in over 2000 tests of about 400 strips of excised intestines and uteri from 76 different animals, principally rabbits, cats and dogs, 45 were found to alter definitely the responses of the smooth muscle to epinephrine, pilocarpine and barium, employed as chemical stimuli.

2. Among the most important altering agents or conditions were the surface active agents, precipitants or flocculants, certain lipoids, colloids, and changes in concentration of hydrogen, calcium and potassium ions.

3. The altered responses to the autonomic drugs were qualitative and quantitative, though principally the latter.

4. Previous treatment of the excised organs with practically ineffective concentrations of acetone, camphor, saponin, agar, acacia, colloidal arsenic, copper, tannin and cocaine, to mention some of the typical agents, sensitized smooth muscle, causing marked responses to one or more of the following autonomic drugs ; epinephrine, pilocarpine, and barium.

5. The following reversals of response were demonstrated ; of uterine muscle to epinephrine by cholesterol and procaine, of uterine

muscle to barium by potassium-free Tyrode, and of duodenum to calcium by apodoceine, and to cocaine and procaine by atropine,

6. The majority of altered responses to the autonomic drugs used occurred with uterine muscle, less frequently with the colon and duodenum. There were also species differences.

7. The effects and mechanisms of action of a large number of agents, used to determine the scope of alteration of response, have been described for the first time. The effects of some agents previously described have been confirmed and of others, not confirmed.

8. Certain theories in the literature of the identity of calcium and sympathetic, and of potassium and parasympathetic, responses were not sustained by the evidence obtained.

9. The results obtained support the idea that the fundamental basis of altered functional responses of cells, such as occur in allergic states (anaphylactic and anaphylactoid), is concerned with disturbances in the physical and chemical mechanisms of the blood and tissues.

10. From the facts that disturbances in physical and chemical mechanisms during allergic phenomena have been demonstrated in the literature and that some analogous and other physical and chemical changes have been shown to alter the functional responses of smooth muscle cells in this study, and that many of the agents used to produce such alterations in the intact organisms and of excised organs are relatively inert or inactive in the ordninary sense, something of the possibilities of the altering influences of body fluids on cells and functions in clinical and experimental allergies is indicated.

Acknowledgement.

The author wishes to acknowledge the constant help and criticism of Professor P. J. HANZLIK, who suggested the problem.

REFERENCES.

1. HANZLIK and KARSNER : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1920, 14 : 379, 425, 449, 463, 679 ; 1924, 23 : 173, 237, 243.

2. HANZLIK, DE EDS and TAINTER : *Arch. Int. Med.*, 1925, 36: 447.

3. HANZLIK : *J. Am. Med. Assoc.*, 1924, 82 : 2001.

4. SCHULTZ : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1910, 1 : 549 : 1910, 2 : 221. *U. S. Hygiene Lab. Bull.*, 1912, N° 8.

5. DALE : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1913, 4 : 167.

6. HOWELL : *Am. J. Physiol.*, 1899, 2 : 47.

7. LOEWI : *Klin. Woch.*, 1923, 2 : 1840.

8. HAMBURGER : *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1923, 34 : 173.

9. BURRIDGE : *Arch. Intern. de Pharmacodyn. et de Therap.*, 1922, 27 : 231, 239, 243, 247 ; *Quart. J. Med.*, 1916-17, 10 : 141 ; 157.

10. : *J. Pharm. Exp. Therap.* ; 1925, 25 : 140.

11. HANZLIK and DE EDS : *J. Lab. Clin. Med.*, 1922, 7 : 751.

12. ALVAREZ, W. C. : *The Mechanics of the Digestive Tract.*, 1922, B. P. Hoeber.

13. ALVAREZ : *Am. J. Physiol.*, 1914, 35 : 177.

14. OLMSTED and MAC ARTHUR : Science, 1922, 55 : 625.

15. ALPERN : *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1924, 205 : 578.

16. ACTON and CHOPRA : *Indian J. Med. Res.*, 1925, 12 : 443.

17. HAYAKAMA : *J. Oriental Med.*, 1924, 2 : 289.

18. TATE and CLARK : *Arch. Intern. de Pharmacodyn. et de Therap.*, 1921, 26 : 103.

19. ZONDEK : *Klin. Woch.*, 1925, 4 : 809.

20. DE TORI : *Kolloid. Zeit.* 1921, 28 : 145.

21. HEUBNER : *Nachricht. der Gesellschaft der Wissenschaft zu Göttingen. Math.-Physik. Klasse.* 1924.

22. CLARK : *J. Physiol.*, 1913-14, 47 : 66.

23. RAEDEMAKERS and SOLLMANN : *Arch. Internat. de Pharmacodyn. et de Therap.*, 1924, 29 : 481.

24. ST. WEISS : *Magyr orvosi Archivum*, 1924, 25 : 423.

25. LEITES : *Z. ges. exp. Med.*, 1925, 44 : 319.

26. THIENES : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1925, 22 : 539.

27. ROBERTSON : *Australian J. Exp. Biol. Med. Sci.*, 1925, 11 : 83.

28. VAN LEEUWEN and GYÖRGI : *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1923, 96 : 334.

29. HANDOVSKY : *Klin. Woch.*, 1924, 3 : 1354.

30. VAN LEEUWEN and GYÖRGI : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1922, 20 : 1.

31. RYDIN : *Compt. rend. soc. biol.*, 1925, 92 : 654, 658, 562.

32 . DE EDS : *J. Lab. Clin. Med.*, 1926, 11 : 464.

33. STROSS : *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1922, 95 : 304.

34. MAGERL : *Arch. f. d. ges. Physiol.*, 1924, 202, 509.
35. BORDET : *Compt. rend. soc. de biol.*, 1913, 74 : 225, 877.
36. JUNKMANN : *Klin. Woch.*, 1924, 3 : 1570.
37. HANZLIK : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1920, 14 : 463.
38. HAZAMA : *Arch. exp. Path. Pharm.* 1925, 106 : 223.
39. HANDOVSKY and HEUBNER : *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1923, 99 : 123.
40. LILLIE, R. S. : *Protoplasmic Action and Nervous Action*, 1923, Univ. Chivago Press.
41. HÖBER : *Klin. Woch.*, 1925, 4 : 1337.
42. KENDALL : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1925, 22 : 307.
43. VAN LEEUWEN and BEUTNER : *Arch.exp. Path. Pharm.*, 1923, 96 : 344.
44. AMBERG and KNOX : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1911-12, 3 : 223.
45. LUNDBERG : *Compt. rend. soc. biol.*, 1922, 87 : 483.
46. MEYERHOF : *Chemical Dynamics of Life Phenomena*, 1924, J. B. Lippincott and Co.
47. FRASER : *Am. J. Physiol.*, 1925, 72 : 117.
48. TESCHENDORF : *Arch. exp. Path.* Pharm., 1922, 92 : 324.
49. GROSS and CLARK : *J. Physiol.*, 1922-23, 57 : 457.
50. HAZAMA : *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1925, 105 : 88.
55. ALDERHALDEN and GELLHORN : *Arch. f. f. ges. Physiol*, 1924, 206 : 154.
52. NAGAMACHI : *Acta schol. med. Kioto*, 1922, 4 : 409.
53. FRÖHLICH and LOEWI : *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1910, 62 : 159.
54. SCHNELLER : *Arch. exp. Path. Pharm.*, 1925, 108 : 78.
55. TAINTER and HANZLIK : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1924, 24 : 179.
56. HANZLIK : *J. Indust. Hyg.*, 1923, 4 : 448.
57. HARKAVY : *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1925, 22 : 225.
58. HANZLIK : *J. Pharm. Exp. Therap.*, 1912, 3 : 387.
59. OSWALD : *Zeit. f. exp. Path. u. Therap.*, 1910, 8 : 226.

J. Bordet, Remarques sur la note de MM. Auguste Lumière et Henri Couturier, intitulée « Sur la toxicité du sérum gélosé », p. 353. — Klaus Hansen, Ein exakteres Mass für den Alkoholisierungsgrad des Organismus bei psychischen und psychophysiologischen Alkoholversuchen (3 fig.), p. 355. — Mario Ajazzi-Mancini, Sull'azione della sodio-nitro-canfora. — Contributo alla farmacologia della canfora. Ricerche sperimentali (13 fig.), p. 385. — C. Heymans et A. Ladon, Recherches physiologiques et pharmacologiques sur la tête isolée et le centre vague du chien. — I. Anémie, asphyxie, hypertension, adrénaline, tonus pneumogastrique, hyperthermie (16 fig. dont 1 hors texte), p. 415. — Index bibliographique des volumes I-XXX des Archives internationales de pharmacodynamie et de thérapie : I. — Table des auteurs, p. I. — II. — Table des matières, p. XXVII.

1925. Vol. XXXI. — Mario Chio, Sulla funzione del cuore isolato di rana (15 fig.), p. 1. — Torald Solmann and A. Rademaekers, Investigations on saline cathartics. — II. Magnesium Sulphate on the Peristalsis and the Propulsion in Small Intestines (20 fig.), p. 39. — Pietro-Maria Niccolini, Sul sinergismo tra farmaci ed ormoni, Nota 1ª : Digitalici e tiroide (5 fig.), p. 71. — Luigi Tocco-Tocco, Sull'importanza della reazione della strofantina, praticata facendo agire l'acido solforico sul seme di strofanto con un nuovo procedimento, e sulla conservazione dei semi di strofanto, p. 91. — Luigi Tocco-Tocco, Ricerche chimiche e farmacologiche sui rapporti che esistono fra le reazioni che i semi di strofanto danno con acido solforico e la loro attività biologica, p. 107. — Alfredo Chistoni, Ricerche farmacologiche sopra un colloide di bismuto, p. 121. — Luigi Tocco-Tocco, Sulla diffusione dei farmaci. — Contributo alla conoscenza del meccanismo intimo di diffusione dei farmaci, p. 145. — J.-J. Bouckaert, Influence de l'éthylène sur les échanges respiratoires, la pression sanguine, le cœur isolé et les levures, (9 fig.), p. 159. — Dott. Mario Prati, Sull'uso del lumbricus terrestris per l'identificazione biologica dei veleni (22 fig.), p. 179. — Luigi Tocco-Tocco, Sull' azione vermicida della santonina, p. 209 — Renzo Benigni, Sulle cause della intossicazione che può determinare il calomelano somministrato a scopo purgativo, p. 219. Maurice Appelmans, Le sort du bromure injecté dans le sang, p. 231. — Auguste Lumière & Henri Couturier, Sur le rôle des centres nerveux dans les chocs anaphylactiques (1 fig.), p. 265. — André Simonart, Les excitations mécaniques et physiques sur les organes in vitro, p. 279. — Paul Regnier, Recherches pharmacodynamiques sur les actions vasculaire, vasomotrice et pupillaire du calcium et du potassium (2 fig.), p. 303. — Auguste Lumière & Henri Couturier, Conditions sur la toxcité du sérum du gélosé, p. 335.

Archives internationales de Pharmacodynamie et de Thérapie, vol. XXXI, fasc. V-VI.

MAISON D'ÉDITION VANDERPOORTEN & C°, RUE DE LA CUILLER, 18, GAND.